

LISETE MARIA LORINI

CRIAÇÃO, COMPORTAMENTO SEXUAL E INIMIGOS NATURAIS DE
***Lonomia obliqua* WALKER, 1855 (LEPIDOPTERA: SATURNIIDAE)**

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor, pelo Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Entomologia, do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Orientação: Profº Dr. Paulo Henrique G. Zarbin

Curitiba

2005

Quando se vê, o ato de ver não tem forma -- o que se vê às vezes tem forma, às vezes não. O ato de ver é inefável. E às vezes o que é visto também é inefável.

CLARICE LISPECTOR
(Água Viva)

Na natureza, as espécies animais e vegetais estão sincronizadas para se sustentarem e equilibrarem mutuamente para harmonia do ecossistema.

Acidentes e incidentes provocam desequilíbrios no ecossistema, trazendo consequências nefastas e comprometendo a qualidade e, muitas vezes, a vida no planeta.

Cabe à inteligência humana, através de análises científicas, detectar as causas para fazer frente aos danos e reordenar o curso natural das coisas.

Muitas vezes, um incidente catastrófico nos proporciona oportunidades de descobertas importantes para o bem da humanidade, pois, ao pesquisarmos formas de debelar um determinado problema, poderemos descobrir soluções para outros até então insolúveis.

O olhar do homem sobre a natureza, perscruta seus enigmas e suas essências, para capturar a sabedoria, que perpassa os sistemas dinâmicos e equilibrados que a constituem.

A natureza é perfeita, o homem deve ter a humildade de aprender com ela e se dar conta que sua sobrevivência depende muito daquilo que ele fizer para preservá-la.

Quando interagimos com a natureza, devemos cuidar do legado de nossos antepassados e garantir o futuro dos que irão nos suceder.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Paulo H. G. Zarbin, pela orientação, apoio, incentivo e amizade no decorrer desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Eraldo R. de Lima pela metodologia na condução dos estudos sobre o comportamento da espécie;

Ao Prof. Dr. Luis Amílton Foerster, pela gentileza em emprestar uma câmara BOD para a realização dos experimentos durante o curso.

Ao Dr. Ronaldo Toma, do Museu de Zoologia da USP, e ao Prof. Vinalto Graf, da Universidade Federal do Paraná, pela identificação dos parasitóides de Diptera e de Hymenoptera. À amiga Carolina L. Cañete pela colaboração na identificação dos Hymenoptera.

Aos professores e colegas do Departamento de Zoologia, Pós-Graduação em Entomologia da Universidade Federal do Paraná, pelos ensinamentos transmitidos, amizade e convívio durante o curso. Entre esses, à prof^a. Dra. Lúcia M. de Almeida pela especial atenção.

Aos meus pais, Isolina e Dionísio agradeço a sabedoria em apontar o caminho e em silenciar quando as decisões deveriam ser por mim assumidas.

Aos meus irmãos Flávio, Cláudio, Romeu, Irineu, Marisélia, Dalila, Darcila, Arlete e Marlise, pelo apoio, incentivo e carinho. A Arlete, em especial, pelas correções nessa tese e, ao Irineu, pela imensa contribuição na pesquisa e incentivo constante. Aos cunhados (as), e sobrinhos (as) pelo carinho de sempre.

Aos colegas de sala na Entomologia, pelo convívio diário, a talentosa Anamaria e ao Guilherme, Silvio, Jaime, Gustavo e Elaine por estarem sempre atentos em colaborar.

Aos novos amigos do laboratório de Ecologia química da Universidade Federal do Paraná (prof. Dr. Alfredo, Fernanda (amiga atenciosa), Rogério, Zé, Edson, Carlinhos e Davi, pela receptividade e amizade. Ao colega Marcos Moreira pelas saídas descontraídas e pela amizade.

À colaboração dos amigos Guacira Duarte e Luis Otávio R. Rodrigues, responsáveis pelo Escritório da EMATER da cidade de Vila Maria, RS, pela incansável dedicação nas coletas das lagartas nas comunidades da região.

À sempre prestativa Dra. Marion do Rocio F. Avanci pelo auxílio na estatística, na formatação da tese e, principalmente, pela amiga especial.

À amiga Dra. Miryan D. Araújo Coracini pelas sugestões nos capítulos de Comportamento e Acasalamento e pela amizade (não vou esquecer os pratos deliciosos *gluten-free*).

Aos colegas professores e amigos da Universidade de Passo Fundo, Carla D. Tedesco, Noeli Zanella e João V. Grando, pelo apoio, coleguismo e suporte durante a realização de meu doutorado. À colega Dileta Cecchetti pelo auxílio nos cálculos estatísticos. Entre estes, fica um agradecimento especial à Carla, pela incansável dedicação e pelo cuidado às lagartinhas e com a equipe do Projeto Taturana.

Aos biólogos Dayane M. Piva, Juliano Bonatti, Agele Kich, Leonildo Betanin e aos acadêmicos Cristiano R. Buzatto, Alexandra Braun, Francieli Índia Amaral e Bruno A. Gonçalves, pela colaboração durante a coleta e criação dos insetos no Laboratório de Entomologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Passo Fundo.

À Universidade de Passo Fundo, pelo auxílio e apoio dispensados durante a realização do curso e ao CNPq, pelo suporte financeiro.

À todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

	Página
Agradecimentos.....	I
Sumário.....	III
Apresentação.....	V
Resumo.....	VI
Abstract.....	VIII
Introdução Geral.....	1
Literatura Citada.....	9
 CAPÍTULO I - Técnica de criação para obtenção dos adultos de <i>Lonomia obliqua</i>	
Walker, 1855 (Lep.: Saturniidae).....	13
Resumo.....	14
Abstract.....	15
Introdução.....	16
Material e métodos.....	19
Resultados e discussão.....	20
Fase de larva.....	20
Fase de pupa.....	21
Emergência dos adultos de <i>Lonomia obliqua</i>	24
Literatura citada.....	27
 CAPÍTULO II- Comportamento de acasalamento dos adultos de <i>Lonomia obliqua</i>	
Walker, 1855 (Lep.:Saturniidae) em laboratório.....	31
Resumo.....	32
Abstract.....	33
Introdução.....	34
Material e métodos.....	35
Resultados e discussão.....	36
Literatura citada.....	46

CAPÍTULO III - Comportamento de chamamento e estudos sobre o feromônio sexual em <i>Lonomia obliqua</i> Walker, 1855 (Lep.: Saturniidae).....	52
Resumo.....	53
Abstract.....	54
Introdução.....	55
Material e métodos.....	55
Obtenção e criação dos insetos.....	55
Comportamento de chamamento das fêmeas.....	56
Extração da glândula de feromônio sexual das fêmeas	57
Análises em cromatografia gasosa acoplada a um detector eletroantenográfico (GC-EAD).....	57
Testes em olfatômetros.....	57
Resultados.....	58
Discussão.....	68
Referências Bibliográficas.....	73
 CAPÍTULO IV - Identificação de parasitóides e incidência de parasitismo natural em <i>Lonomia obliqua</i> Walker 1855 (Lepidoptera: Saturniidae).....	 79
Resumo.....	80
Abstract.....	81
Introdução.....	82
Material e métodos.....	84
Resultados e discussão.....	85
Parasitismo por Diptera (Tachinidae).....	87
Parasitismo por Hymenoptera (Ichneumonidae).....	95
Literatura citada.....	101
 Conclusões Gerais e Perspectivas de Trabalho.....	 105

APRESENTAÇÃO:

Esta tese aborda a Técnica de criação, o Comportamento sexual e a Incidência de inimigos naturais em *Lonomia obliqua* Walker, 1855 (Lepidoptera: Saturniidae). A estrutura do trabalho compreende uma Introdução Geral sobre *L. obliqua* e quatro capítulos distintos. O primeiro capítulo, trata da Técnica de criação de *L. obliqua* em laboratório que teve por objetivo a obtenção de adultos da espécie para os estudos posteriores. O capítulo II descreve o Comportamento de corte e de acasalamento dos adultos de *L. obliqua*. No capítulo III investigou-se o Comportamento de chamamento e foram desenvolvidos estudos sobre o feromônio sexual em *L. obliqua*. O último capítulo (IV), relata a Incidência de parasitismo natural e a identificação de parasitóides em *L. obliqua*. Cada capítulo da tese está formatado independentemente, para posteriormente ser submetido para publicação.

Criação, Comportamento sexual e Inimigos naturais de *Lonomia obliqua* Walker, 1855

(Lepidoptera: Saturniidae)

RESUMO

Larvas de *Lonomia obliqua* foram detectadas na região Sul do Brasil no final da década de 80 e têm causado, desde então, centenas de acidentes hemorrágicos em pessoas que entraram em contato com as mesmas provocando inclusive, várias vítimas fatais. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi estudar a ecologia química da espécie com a finalidade de verificar a presença de feromônio sexual mediando o comportamento de chamamento das fêmeas e o acasalamento de *L. obliqua* em laboratório. Para obtenção de adultos foi desenvolvida uma técnica de criação em laboratório e, devido a influência de parasitóides que ocorrem no habitat natural da espécie, foi procedida a identificação dos mesmos e determinada a percentagem de parasitismo. A técnica de criação desenvolvida permitiu a obtenção de 376 machos e 354 fêmeas de *L. obliqua*, com período pupal de 31,90 e de 33,56 dias, respectivamente. A maioria dos adultos emergiu durante a escotofase, com um tempo inicial médio de emergência de 3,57h ($\pm 2,58$) para machos e 3,72h ($\pm 2,52$) para fêmeas. Para o comportamento de chamamento, o qual ocorreu durante a escotofase, obteve-se que 87,5% das fêmeas observadas chamaram, com 70,6% chamando pela primeira vez até 24h de vida. As fêmeas geralmente iniciaram o chamamento aos 360 min na escotofase, do primeiro dia, antecipando o início do chamamento à medida que envelheciam. A média do Tempo Total de Chamamento por Fêmea foi de 212min (± 99 min). O maior percentual de fêmeas chamando ocorreu no 3º dia após a emergência. No comportamento de acasalamento, verificou-se que 75% dos 16 casais observados acasalaram, e o acasalamento ocorreu uma única vez para cada casal, sendo que 83% das fêmeas acasalaram até as 24 horas após a emergência. O horário de início do acasalamento foi ao amanhecer do dia seguinte ao da emergência, com uma duração média de 896 ± 152 min. As análises eletrofisiológicas realizadas em GC-EAD indicaram a existência de dois

componentes ativos nos extratos de glândulas de feromônio sexual das fêmeas. O extrato bruto das glândulas quando submetido a testes de olfatometria, exerceu uma forte atratividade sobre os machos da espécie, evidenciando a mediação por feromônio sexual durante o acasalamento. Foram identificadas nove espécies de endoparasitóides de *L. obliqua*, sendo sete pertencentes a Tachinidae (Diptera) e duas a Ichneumonidae (Hymenoptera), com percentagem de parasitismo variável entre as espécies de parasitóides.

PALAVRAS-CHAVE: Taturana, Criação de Laboratório, Comportamento de Chamamento, Feromônio Sexual, Comportamento de Corte e Acasalamento, Parasitóides, Tachinidae, Ichneumonidae.

Rearing, sexual behaviour and natural enemies of *Lonomia obliqua* Walker, 1855**(Lepidoptera: Saturniidae)****ABSTRACT**

Lonomia obliqua larvae were detected in the southern region of Brazil at the end of the 1980's and have since caused hundreds of haemorrhagic accidents in humans which have come into contact with it, leaving behind some deaths. Thus, the chemical ecology of the species was studied, with the aim of detecting sexual pheromone mediating the calling behaviour of females and mating of *L. obliqua* in laboratory. A rearing method was developed in laboratory for the yielding of adults, and due to the influence of parasitoids which occur in the natural habitat of the species, these were identified and the parasitism percentage was determined. This methodology allowed the yielding of standardized *L. obliqua* adults, 376 males and 354 females, to perform the bioassays of pheromone evidence and mating behaviour of the species. The pupae period was 31.90 days for male and 33.56 days for female and the majority of adults emerged during the scotophase with an initial average emergence time of 3.57h (± 2.58) for males and 3.72h (± 2.52) for females. During the observation period, 87.5% of the females called only during in the scotophase, with 70.6% calling for the first time up to 24h into their lifespan. The females started calling, on average, on the 360th min of scotophase on the first day, anticipating the calling as they aged. The average of Total Calling Female Time observed was 212min (± 99 min). The largest percentage of calling females was in the third day after emergence. Among the 16 couples observed, 75% mated; of these, 83% of females mated up to 24 hours after emergence. Only one mating occurred for each couple, and that started at daybreak in the day after emergence, and the mating's average duration was 896 \pm 152min. The electrophysiological analyses carried out in GC-EAD showed the presence of at least two active components in the sex gland extracts of females. Test on olfatometer showed that the sex gland extracts has a high attractiveness to the males of the species, evidencing the mediation of the sexual

pheromone in mating of *L. obliqua*. Nine species of *L. obliqua* endoparasitoids were identified, seven of them belonging to Tachinidae (Diptera) and two to Ichneumonidae (Hymenoptera), and parasitism percentage varied between parasitoid species.

KEY WORDS: Hemorrhagic caterpillar, Rearing Method, Calling Behaviour, Sexual Pheromone, Courting and Mating Behaviour, Parasitoids, Tachinidae, Ichneumonidae,

INTRODUÇÃO GERAL

Lonomia obliqua Walker, 1855 (Lep.: Saturniidae), é um inseto que ocorre, preferencialmente, na Região Sul do Brasil. A larva desse lepidóptero (Fig. 1), possui uma toxina em seus escolos e cerdas que, em contato com a pele dos seres humanos, provoca inúmeros acidentes hemorrágicos (Duarte *et al.*, 1990). A fase larval se desenvolve durante os meses da primavera e verão, favorecendo o contato com humanos.

Estudos sobre a biologia e morfologia de *L. obliqua* têm esclarecido a respeito da duração das fases do seu ciclo de vida, bem como as características da larva a qual tem se caracterizado como um problema de saúde pública (Lorini, 1999). Nas últimas décadas, o avanço do desmatamento para a instalação de lavouras extensivas, alterou provavelmente o habitat natural deste inseto, reduzindo assim o número de seus inimigos naturais e favorecendo a sua aproximação com os seres humanos.

O estudo do comportamento sexual de *L. obliqua*, como a idade e o horário de acasalamento dos adultos, torna-se imprescindível para o melhor compreender a sua comunicação



química.

Figura 1. Larva de 5º instar de *Lonomia obliqua*.

Gênero *Lonomia*

Por só ter apresentado importância, principalmente na área médica no final da década de 1980, a literatura sobre *L. obliqua* é bastante restrita. As principais citações referem-se principalmente à evolução taxonômica com a distribuição geográfica e os locais onde foram obtidos os exemplares identificados. Pesquisas recentes relatam sobre as propriedades da toxina presente nos esolcos e cerdas das larvas de *L. obliqua*. A taxonomia do grupo sofreu modificações ao longo do tempo, propiciando o aparecimento de várias sinonímias. O gênero *Lonomia* apresentou uma série de alterações e diferentes trabalhos sistemáticos já foram descritos.

Lemaire (1972a) publicou descrições preliminares de seis novas espécies do gênero *Lonomia* encontradas na América Central e do Sul e, entre estas, a *L. obliqua*. O mesmo autor (Lemaire, 1972b) apresentou a revisão do gênero *Lonomia*, com a posição sistemática, distribuição geográfica e morfologia externa dos adultos de *L. obliqua*. Também registrou a existência de 26 espécies do gênero *Lonomia*, sendo oito pertencentes ao subgênero *Lonomia* e as demais ao subgênero *Periga*. Estudos mais recentes apresentados por Lemaire (2002) indicam uma nova distribuição para o gênero *Lonomia*, relacionando então dez espécies .

Distribuição geográfica

O gênero *Lonomia* está geograficamente distribuído na América Central e do Sul e no México. *L. obliqua* é endêmica na região que abrange o leste da Bahia ao Rio Grande do Sul, ocorrendo também no Uruguai, distribuindo-se pelos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo e Minas Gerais (Fig. 2) (Lemaire 1972 a; Lemaire, 2002).



Figura 2. Distribuição geográfica do gênero *Lonomia*. (Adaptado de Lemaire, 2002).

Acidentes pelo contato com as larvas

Apesar de já existirem, desde o início do século passado registros de acidentes hemorrágicos por contato com lagartas gregárias em Minas Gerais (Alvarenga, 1912), somente a partir de 1989

que os casos com as larvas de *L. obliqua* se acentuaram no Brasil. O fenômeno adquiriu dimensões epidêmicas na Região Sul do Brasil, principalmente no Norte do Rio Grande do Sul e no Oeste de Santa Catarina, atingindo também os Estados do Paraná e São Paulo (Duarte *et al.*, 1990).

Os sintomas de alteração na coagulação sangüínea e a morte de pessoas pelo contato acidental com as larvas são registrados apenas com duas espécies do gênero *Lonomia*. Na Venezuela, Arocha-Piñango & Layrisse (1969), foram os primeiros a registrar os acidentes hemorrágicos com vítimas fatais, pelo contato com a substância de ação fibrinolítica, presente nos escolos e nas cerdas da larva de *L. achelous*. No Brasil, os primeiros relatos de acidentes, com vários óbitos causados pela mesma espécie, ocorreram no Estado do Amapá (Fraíha Neto *et al.*, 1985). A situação se repetiu em 1989 no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina, com *L. obliqua*, onde foram registrados quatro óbitos (Duarte *et al.*, 1990).

Em 1995 foi registrado o primeiro avanço no bloqueio da toxina e na recuperação de vítimas com acidentes envolvendo a *L. obliqua*, a partir da descoberta, pelo Instituto Butantan em São Paulo, do soro antilonômico. Esse soro foi disponibilizado em 1996 para várias cidades do Brasil, onde havia registros de acidentes com esta espécie (Silva *et al.*, 1996).

De acordo com a intensidade dos distúrbios hemostáticos, os acidentes causados pelo contato com as larvas de *L. obliqua* podem ser classificados em três níveis: leve, moderado e grave. As manifestações no organismo geralmente estão relacionadas à intensidade do contato, ao número de insetos envolvidos e ao instar em que essas larvas se encontram. Os pacientes acidentados podem apresentar queimaduras na área de contato, seguidas por eritema, edema, bolhas, dor de cabeça, náuseas e vômitos. As hemorragias podem surgir espontaneamente, no período de 1 a 72h após o contato, quando se instala um quadro de discrasia sangüínea, com o aumento do tempo de coagulação (TC), até tornar-se incoagulável. Nos casos mais graves, pode ocorrer hemorragia no sistema digestivo, nos pulmões ou na região intracraniana, insuficiência renal aguda e complicações

que podem levar a vítima ao óbito (Duarte *et al.*, 1990, 1994, Kelen *et al.*, 1995, Caovilla & Barros 2004).

Plantas hospedeiras e inimigos naturais

As larvas de *L. obliqua* são polípagas, alimentando-se de várias espécies vegetais, preferencialmente de *Platanus acerifolia* (plátano), *Pyrus communis* (pereira) e *Prunus domestica* (ameixeira) (Lorini, 1999; Lorini & Corseuil, 2001). Os mesmos autores registraram outras espécies vegetais nas quais as larvas se alimentam porém, com menor intensidade, como cedro (*Cedrela fissilis*), eritrina (*Erythrina crista-galli*), figueira (*Ficus carica*), seringueira (*Ficus elastica*), figueira do mato (*Ficus subtriplinervia*), abacateiro (*Persea gratissima*), pessegueiro (*Prunus persica*), goiabeira (*Psidium guayava*), araticum (*Rollinia emarginata*) e ipê roxo (*Tabebuia pulcherrima*). A similaridade das larvas de *L. obliqua* com as de outros lepidópteros criou uma grande demanda por esclarecimentos sobre a morfologia e biologia desta espécie. As larvas são gregárias, mimetizando-se no tronco das plantas hospedeiras favorecendo assim os acidentes com as pessoas. Estudos iniciais indicavam que a distribuição geográfica do inseto parecia estar restrita a áreas rurais e a regiões de maior quantidade de fragmentos florestais, voltado para a instalação de lavouras extensivas, porém, recentemente verificou-se a presença das mesmas em áreas urbanas.

Como toda espécie, *L. obliqua* possui inúmeros inimigos que mantêm a sua população em equilíbrio. A interferência humana no meio ambiente nos últimos cinquenta anos, incluindo desmatamentos, queimadas, uso de agroquímicos e introdução de espécies exóticas, tiveram grande efeito sobre a fauna e flora. Isso tudo, provavelmente, alterou o hábitat natural desta espécie, reduzindo assim o número de inimigos naturais e favorecendo a aproximação com os seres humanos (Lorini, 1999). Nas regiões de ocorrência de *L. obliqua* o desmatamento foi muito intenso

para a expansão da agricultura e da pecuária, restando fragmentos de florestas secundárias, de campos e de vegetação ciliar descontínua. Por isso, torna-se necessário definir os seus agentes de controle biológico natural, sua dispersão e abundância, possibilitando um restabelecimento do equilíbrio ecológico e salvaguardando a população de acidentes.

Pela dimensão que o problema tem adquirido, torna-se fundamental o desenvolvimento de pesquisas no sentido de tentar atenuar esse fenômeno, sendo a utilização de feromônios, uma ferramenta com grande potencial de aplicação no monitoramento e controle da espécie.

Feromônios em Saturniidae

Entre os lepidópteros esta o maior número de espécies onde os feromônios têm sido estudados. Isso se deve ao expressivo número de espécies que se destacam como pragas de várias culturas de valor econômico, tendo os feromônios papel fundamental no monitoramento das espécies, visando a aplicação de medidas de controle das pragas. Os mecanismos de percepção e orientação do inseto até a fonte de feromônio e a produção dessas substâncias químicas são governadas por fatores de natureza endógena e exógena (Vilela & Della Lucia, 2001).

O número de espécies com feromônio sexual identificado na família Saturniidae ainda é pequeno (Tabela 1), muito provavelmente por poucos representantes serem considerados insetos-praga na agricultura.

Entre as espécies de Saturniidae, *Hemileuca maia* (Drury 1775) evidenciou algumas semelhanças com *L. obliqua*. A larva de *H. maia* alimenta-se de folhas de carvalho (*Quercus robur*), ocorre na metade Leste dos Estados Unidos e também apresenta cerdas urticantes ao longo do corpo, que provocam queimaduras graves, quando em contato com os seres humanos. As larvas de *H. maia* são encontradas em lugares públicos, como parques e praças, configurando-se como um problema de saúde pública, que justifica o uso de inseticidas nas plantas hospedeiras, no período da

primavera. Três componentes foram identificados nos extratos das glândulas de feromônio sexual de fêmeas de *H. maia*. Como componente majoritário o (E10,Z12)-hexadecadienal e os componentes minoritários (E10,Z12)-hexadecadienol e (E10,Z12)-acetato de hexadecadienila. Nos testes em GC-EAD, a antena dos machos respondeu à esses três componentes do extrato das glândulas. Porém, não houve atratividade de machos em testes realizados em campo com os compostos isolados. Várias outras tentativas foram realizadas combinando-se os componentes da glândula das fêmeas, mas nenhuma aumentou significativamente a atratividade dos machos (McElfresh *et al.*, 2001).

Tabela 1. Relação das espécies de Saturniidae com feromônio sexual identificado.

Espécie	Feromônio	Referência
<i>Antheraea pernyi</i> Guérin-Méneville	<i>E6,Z11-16:Ald; E6,Z11-16:Ac; E4,Z9-14:Ac; Z11-16:Ac; E6-16:Ac; 6:Ac; 16:OH; 12:Ac</i>	Bestmann <i>et al.</i> (1987)
<i>Antheraea polyphemus</i> Cramer	<i>E6,Z11-16:Ac; E6,Z11-16:Ald</i>	Kochansky <i>et al.</i> (1975)
<i>Coloradia velda</i>	<i>E10,Z12-16:Ac; E10,E12-16:Ac; E10,Z12-16:OH; E10,Z12-16:Ald; 16:Ac.</i>	McElfresh <i>et al.</i> (1999a)
<i>Hemileuca eglanterina</i> Boisduval	<i>E10,Z12-16:Ac; E10,E12-16:Ac; E10,Z12-16:OH; E10,E12-16:OH; E10,Z12-16:Ald; 11-16:Ac; Z10-16:Ac; 16:Ac; 16:OH.</i>	McElfresh <i>et al.</i> (1999b)
<i>Hemileuca electra electra</i> Wright	<i>E10,Z12-16:Ac; E10,Z12-16:OH; E10,Z12-16:Ald; 16:Ac; E10,E12-16:Ac; E10,E12-16:OH; 11-16:Ac; Z10-16:Ac; 16:OH</i>	McElfresh <i>et al.</i> (1999c)
<i>Hemileuca electra mojavensis</i> Wright	<i>E10,Z12-16:Ac; E10,Z12-16:OH; E10,Z12-16:Ald; 16:Ac; E10,E12-16:Ac; E10,E12-16:OH; 11-16:Ac; Z10-16:Ac; 16:OH</i>	McElfresh <i>et al.</i> (1999c)
<i>Hemileuca nuttalli</i> Strecker	<i>E10,Z12-16:Ac; E10,E12-16:Ac; E10,Z12-16:OH; E10,E12-16:OH; E10,Z12-16:Ald; 11-16:Ac; Z10-16:Ac; 16:Ac; 16:OH</i>	McElfresh <i>et al.</i> (1999d)
<i>Hemileuca maia</i> (Drury 1775)	<i>E10, Z12- 16:Ald; E10, Z12-16:OH; E10,Z12-16:Ac</i>	McElfresh <i>et al.</i> (2001)
<i>Samia cynthia ricini</i> Donovan	<i>E4,E6,Z11-16:Ald; E4,E6,Z11-16:Ac</i>	Bestmann <i>et al.</i> (1989)
<i>Nudaurelia cytherea cytherea</i> Fabricius	<i>Z5-10isovalerate</i>	Henderson <i>et al.</i> (1973)

Literatura Citada

Alvarenga, Z.A. 1912. A Taturana. Rev. Fac. Med. USP Ann. VII Congresso Brasileiro Med. Cir. II: 132-135.

Arocha-Piñango, C.L. & M. Layrisse. 1969. Fibrinolysis produced by contact with a caterpillar. London. The Lancet 3-7p.

Bestmann, H.J., Wu Cai-Hong, B. Döhla, & Li-Kedong. 1987. Functional Group Recognition Molecules by Sensory Cells of *Antheraea polyphemus* and *Antheraea pernyi* (Lepidoptera: Saturniidae). Z. Naturforsch. 42: 435-441.

Bestmann, H.J., A.B. Attygalle, J. Schwarz, G. Wolfgang, O. Vostrowisky & I. Tomida. 1989. Pheromones Identification and Synthesis of Female Sex Pheromone of Eri-Silkworm, *Samia cynthia ricini* (Lepidoptera:Saturniidae). Tetrah. Letters 22: 2911-2914.

Caovilla, J.J. & E.J.G. Barros. 2004. Efficacy of two different doses of antilonomic serum in the resolution of hemorrhagic syndrome resulting from envenoming by *Lonomia obliqua* caterpillars: a randomized controlled trial. Toxicon 43: 811-818.

Duarte, A.C., J. Caovilla, I. Lorini, D. Lorini, G. Mantovani, J. Sumida, P.C. Manfre, R. de C. Silveira & S. P. de Moura. 1990. Insuficiência renal aguda por acidentes com lagartas. J. Bras. Nefrol. 12: 184-187.

- Duarte, A. C., G. Walter, E. Barros & I. Lorini. 1994.** Insuficiência renal aguda nos acidentes com *Lonomia obliqua*. Nefrol. Latinoamericana 1: 38.
- Fraiha-Neto, N. H., I. M. Amaral, A. J. Ballarini, L. B. Dias, J. D. Costa & R. N. Q. Leão. 1985.** *Lonomia achelous* (Cramer), (Lepidoptera, Saturniidae), o “tapuru da seringueira”, agente do acidente hemorrágico por contato com larvas de mariposa no Território Federal do Amapá. In: Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. *Anais...* São Paulo p.24
- Henderson, H.E., F.L. Warren, O.P.H. Augustyn, B.V Burger, D.F. Schneider, P.R. Boshoff, H.S.C. Spies & H. Geertsema. 1973.** Isolation and Structure of the Sex-Pheromone of the Moth, *Nudaurelia cytherea cytherea*. J. Insect Physiol. 19:1257-1264.
- Kelen, E.M.A., Z.F. Picarelli & A.C. Duarte. 1995.** Hemorrhagic syndrome induced by contact with caterpillars of the genus *Lonomia* (Saturniidae, Hemileucinae). J. Toxicol Toxin. 14: 283.
- Kochansky, J.P., J. Tette, E.F. Taschenberg, R.T. Cardé, K.E. Kaissling & W.L. Roelofs. 1975.** Sex Pheromone of the *Antheraea polyphemus*. J. Insect Physiol. 21: 1977-1983.
- Lemaire, C. 1972a.** Descriptions d’Attacidae nouveaux d’Amérique Centrale at du Sud. (Lep.). I. Descriptions preliminaries de 16 espèces nouvelles du genre *Lonomia* Walker. Bull. Soc. Entomol. France 76:197-205.
- Lemaire, C. 1972b.** Revision du genre *Lonomia* Walker, [Lep., Attacidae]. Ann. Soc. Entomol. France 8: 767-861.

- Lemaire, C. 2002.** The Saturniidae of America (Les Saturniidae Americans) Hemileucinae Part A, Keltern. Goecke & Evers, 688p.
- Lorini, L. M. 1999.** A Taturana. Aspectos biológicos e morfológicos da *Lonomia obliqua*. Passo Fundo, EDIUPF 67p.
- Lorini, L.M. & É. Corseuil, 2001.** Aspectos Morfológicos de *Lonomia obliqua* Walker, 1855 (Lepidoptera: Saturniidae) em laboratório. Neotrop. Entomol. 30: 373-378.
- McElfresh, J.S. & Millar, J.G. 1999a.** Sex Pheromone of the common sheep moth *Hemileuca eglanterina*, from the San Gabriel Mountains of California. J. Chem. Ecol. 25: 687-709.
- McElfresh, J.S. & J.G. Millar. 1999b.** Sex Atractant Pheromone of Saturniid Moth *Coloradia velda*. J. Chem. Ecol. 25: 1067-1078.
- McElfresh, J.S. & J.G. Millar. 1999c.** Sex Pheromone of Nuttall's Sheep moth *Hemileuca nuttalli* from The Eastern Sierra Nevada Montains of California. J. Chem. Ecol. 25: 711-726.
- McElfresh, J.S. & J.G. Millar, 1999d.** Geografic variation in sex pheromone blend of *Hemileuca electra electra* from Southern California. J. Chem. Ecol. 25: 2505-2525.
- McElfresh, J.S., A.M. Hammond & J.G. Millar. 2001.** Sex Pheromone components of the buck moth *Hemileuca maia* J. Chem. Ecol. 27:1409-1422.

Silva, W.D. da, A.C.R. Campos, L. R.C. Gonçalves, M.C. Souza-e-Silva, H.G. Higashi, I.K.

Yamagushi & E.M.A. Kelen. 1996. Development of antivenom against toxins of *Lonomia obliqua* caterpillars. *Toxicon* 34: 1045-1049.

Vilela, E.F. & T. M.C. Della Lúcia. 2001. Feromônios de Insetos. 2ª ed. São Paulo. Holos, 206p.

CAPÍTULO I:

**Técnica de criação para obtenção de adultos de *Lonomia obliqua* Walker, 1855
(Lepidoptera: Saturniidae) em laboratório**

RESUMO- A necessidade de se obter insetos adultos em quantidade e em determinados períodos do ano, determinou que fosse definida uma técnica de criação para obtenção de adultos padronizados de *Lonomia obliqua* em laboratório. Colônias de larvas representativas da população e em boas condições no momento da coleta no habitat natural, foram selecionadas para iniciar a criação de laboratório. As larvas foram alimentadas diariamente com folhas de plátano até a transformação em pupas. As pupas foram individualizadas, umedecidas diariamente e mantidas em câmara climatizada com controle de temperatura, umidade relativa e da fotofase, até emergência dos adultos. As larvas de *L. obliqua* tiveram bom desenvolvimento em laboratório quando alimentadas com folhas de plátano. Foram obtidos 376 machos e 354 fêmeas de *L. obliqua*, com período pupal de 31,90 e de 33,56 dias, respectivamente. A maioria dos adultos emergiu durante a escotofase, com um tempo inicial médio de emergência de 3,57h ($\pm 2,58$) para machos e 3,72h ($\pm 2,52$) para fêmeas. Esta metodologia permitiu obter os adultos de *L. obliqua* necessários para a realização de estudos complementares.

PALAVRAS-CHAVE: Taturana, criação de laboratório, período pupal, tempo de emergência de adultos.

**Rearing method for the yielding of *Lonomia obliqua* Walker, 1855 (Lepidoptera: Saturniidae)
adults**

ABSTRACT - The need of having *Lonomia obliqua* adults in sufficient amounts and in a certain period of the year, led to study a rearing method in the laboratory for this species. Colonies of larvae population were collected and selected from the natural habitat to start the rearing. The larvae were fed daily with *Platanus acerifolia* leaves until transformation into pupae. The pupae were separated and kept alone, humidified daily and maintained in an acclimatized chamber with controlled temperature, relative humidity, and photophase until the adults emerged. The results showed that the larvae developed well in the laboratory when fed with *Platanus acerifolia* leaves. The pupae period was 31.90 days for male and 33.56 days for females, and 376 males and 354 females of *L. obliqua* were obtained. The majority of adults emerged during the scotophase with an initial average emergence time of 3h57min (± 2.58) for males and 3h72min (± 2.52) for females. This methodology allowed the yielding of *L. obliqua* adults to perform other studies.

KEY WORDS: Hemorrhagic caterpillar, laboratory rearing, pupae period, adult's time emergence.

Introdução

Lagartas de *Lonomia obliqua* Walker, 1855 (Lepidoptera: Saturniidae) surgiram na região Sul do Brasil desde o final da década de 80 causando, centenas de acidentes hemorrágicos em pessoas que entraram em contato com as mesmas, provocando vítimas fatais (Duarte *et al.*, 1990). Esta espécie tem importância na entomologia médica, por ser um problema de saúde pública, uma vez que causa hemorragias nas pessoas que mantêm contato com a fase larval. O contato com a toxina presente nas cerdas das larvas de *L. obliqua* pode provocar desde simples irritações cutâneas, dermatites, queimaduras, alergias e até, hemorragias generalizadas com insuficiência renal aguda nos casos mais graves e morte (Duarte *et al.*, 1990).

A espécie *L. obliqua* ocorre no Brasil em maior densidade populacional nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná (Duarte *et al.*, 1990; Lorini, 1999). Segundo Abella *et al.* (1998), esse aparecimento cada vez mais acentuado das larvas nas últimas décadas na região Sul do país está relacionado ao desmatamento, diminuição do número de inimigos naturais, ocorrência de condições climáticas favoráveis, e devido a adaptações das larvas a plantas exóticas.

A ocorrência de larvas em um curto período do ano e a sazonalidade da oferta de alimento natural (folhas de plantas hospedeiras), dificultam o avanço do conhecimento sobre esta espécie. Isso poderia ser minimizado pelo domínio de técnicas de criação e de sua manutenção em laboratório. Os insetos criados em meios artificiais têm auxiliado no progresso de pesquisas ligadas a sua biologia, ecologia, controle biológico e, nas mais diferentes áreas do conhecimento. Para outras espécies de insetos de importância agrícola existem técnicas de criação que permitem estabelecer metas no número de exemplares a serem obtidos em laboratório em um determinado período, pois existem dietas artificiais que possibilitam a criação em laboratório, principalmente

para espécies da família Noctuidae (Hoffmann-Campo *et al.*, 1985; Salvadori & Parra 1990 a; 1990b).

Para a espécie *L. obliqua* ainda não existe uma técnica de criação em laboratório. Várias tentativas de se obter uma dieta artificial para criação das larvas em laboratório foram feitas sem que um resultado animador pudesse ser encontrado (Agele Kich, comunicação pessoal). Estudos desenvolvidos evidenciaram que as folhas de plantas de plátano (*Platanus acerifolia*) proporcionaram o melhor desempenho na obtenção de larvas de *L. obliqua* (Dayane Piva comunicação pessoal). Os aspectos relevantes da biologia e morfologia desta espécie foram recentemente estudados, mostrando a dificuldade de criação deste inseto em laboratório e as várias interferências que a espécie apresenta quando manipulada em condições artificiais (Lorini, 1999; Lorini & Corseuil, 2001).

Embora não abundantes, existem estudos em laboratório sobre aspectos biológicos e comportamentais para algumas espécies de Saturnídeos. Como para a espécie *Periga (Lonomia) circumstans* (Lep.:Saturniidae) que possui hábitos gregários, permanecendo durante o dia no tronco da planta hospedeira e à noite, se alimentando preferencialmente nas folhas do ponteiro da mesma (D'Antonio, 1983). *Hylesia nanus* (Lep.:Saturniidae) teve a biologia estudada em laboratório (26° ± 1°C e fotofase de 10h) a partir de larvas coletadas em *Psidium guayava* e mantidas com a dieta natural (Santos *et al.*, 1996). Em *Dirphia araucariae* (Lep.:Saturniidae) foi acompanhada a biologia com estudos específicos sobre a fase de pupa e a influência da temperatura no comportamento dos adultos (Borges, 1985; Borges *et al.*, 1986). Beutelspacher (1986) avaliou o ciclo de vida de *Hylesia frigida* (Lep.:Saturniidae), em laboratório. Alguns aspectos da biologia de *Dirphia rosacordis* foram acompanhados com dieta natural de folhas de *Eucalyptus* spp. (Zanuncio *et al.*, 1992). Zanuncio *et al.* (1994), caracterizaram as fases larval e adulta de *Dirphia avicula* (Lep.:Saturniidae), criadas com folhas de *Eucalyptus urophylla* e mantidas em laboratório a 25° ±

2°C, 60 ± 10 de UR e fotofase de 12h. Gardiner (1967) relatou a criação em laboratório, na Inglaterra, de uma colônia de larvas da espécie *L. cynira* procedente do Panamá, com alguns dados biológicos e comentários sobre o seu comportamento. Janzen (1982) descreveu aspectos da biologia e do comportamento de representantes da família Saturniidae do Parque Nacional Santa Rosa, Guanacaste, Costa Rica. Tuskes (1984) estudou a biologia e a distribuição de vários gêneros de Saturniidae (Hemileucinae) encontrados na Califórnia. Allen (1976) acompanhou a biologia de *Dryocampa rubicunda* em três áreas distintas do Nordeste dos Estados Unidos. Schmid *et al.* (1982), avaliaram o ciclo de vida e a distribuição de pupas e massa de ovos de *Coloradia pandora*. Fornés & Hernández (2000) relataram aspectos da biologia e do comportamento de *Hylesia metabus*.

Na definição da biologia de *L. obliqua*, Lorini (1999) e Lorini & Corseuil (2001), relataram a grande dificuldade de conseguir posturas férteis desta espécie em laboratório, tendo que iniciar os estudos com larvas coletadas em habitat natural da espécie. Porém, também encontraram dificuldade ao trabalharem com larvas coletadas a campo, pela mortalidade das mesmas e de pupas em razão da presença de parasitóides.

A necessidade da obtenção de adultos padronizados de *L. obliqua* e em quantidade e em determinados períodos do ano, visando futuros estudos sobre comportamento sexual, determinou que fosse definida uma técnica de criação para obtenção de adultos em laboratório. Como as larvas foram coletadas no habitat natural e houve a ocorrência de parasitóides no laboratório, estes foram identificados e determinado o grau de parasitismo natural, sendo relatados no capítulo IV deste trabalho.

Material e Métodos

O desenvolvimento de uma criação de *L. obliqua*, iniciou-se a partir da coleta de larvas no campo em municípios da região Norte do Estado do Rio Grande do Sul. As larvas coletadas foram mantidas no Laboratório de Entomologia da Universidade de Passo Fundo, RS, em sala climatizada com temperatura de $25 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, $65 \pm 15\%$ UR e fotofase de 12h. Conforme protocolo de recebimento do laboratório, cada colônia foi registrada individualmente, anotando-se a quantidade de larvas, instar larval, município de procedência e a planta hospedeira.

Durante o período de estudo entre 2001 e 2004, foram coletadas 518 colônias perfazendo um total de 22.538 larvas. Como a maioria das larvas coletadas (71%) tinham como planta hospedeira o plátano (*Platanus acerifolia*), esta foi definida como sendo a dieta básica para a criação de *L. obliqua* no laboratório. As larvas foram colocadas em recipientes plásticos de 18 x 25 cm com a tampa ventilada, cobertos com várias camadas de tela de náilon e alimentadas diariamente com folhas de plátano até a transformação em pupas. As pupas foram individualizadas em recipientes plásticos (8cm de altura x 7cm de diâmetro), revestidos com papel filtro e cobertos com tela de náilon, mantidas em câmara climatizada tipo BOD com temperatura de $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, $65 \pm 15\%$ de UR e fotofase de 13 horas. Os recipientes com o substrato contendo as pupas foram umedecidos diariamente, observando-se a sobrevivência das mesmas, o possível parasitismo e a emergência dos adultos. As pupas foram observadas diariamente durante as 11h de escotofase quanto à emergência dos adultos a cada 20 min a partir do início da escotofase. Isso foi necessário para se registrar a hora exata da emergência de cada adulto para posteriormente, se conduzir os outros bioensaios sobre o comportamento da espécie em laboratório. As pupas de machos e fêmeas foram separadas principalmente, pela genitália conforme descrito por Lorini (1999).

Alguns dos adultos emergidos em laboratório e que não foram acompanhados nos testes de comportamento e de acasalamento, foram depositados na coleção do Museu Augusto Ruschi da Universidade de Passo Fundo, RS.

Resultados e Discussão

Fase de larva. Folhas de plantas de plátano mostraram-se eficientes como alimento para larvas de *L. obliqua* propiciando a obtenção dos adultos em laboratório. Das larvas coletadas no campo durante o período de 2001 a 2004, 71% tinham como hospedeiro as plantas de plátano, 13% plantas de pereira (*Pyrus communis*), 2% plantas de ameixeira (*Prunus domestica*) e os outros 14% de várias outras espécies vegetais. Foram encontradas plantas hospedeiras de *L. obliqua* que nunca tinham sido registradas como: macieira (*Malus domestica*), aroeira branca (*Lithrala malleoides*), laranjeira (*Citrus sinensis*), limoeiro (*Citrus limon*) e extremosa (*Lagerstroemia indica*). Em estudos anteriores, Lorini (1999), registrou outras espécies vegetais nas quais as larvas se alimentaram, porém com menor intensidade, como cedro (*Cedrela fissilis*), eritrina (*Erythrina crista-galli*), figueira (*Ficus carica*), seringueira (*Ficus elastica*), figueira do mato (*Ficus subtriplinervia*), abacateiro (*Persea gratissima*), pessegueiro (*Prunus persica*), goiabeira (*Psidium guajava*), araticum (*Rollinia emarginata*) e ipê roxo (*Tabebuia pulcherrima*). O fornecimento de uma dieta de qualidade e em abundância é fundamental para o desenvolvimento uniforme da população de larvas e à obtenção de pupas e adultos saudáveis.

Verificando o comportamento da espécie, pode-se observar o hábito gregário das larvas de *L. obliqua* durante todos os instares larvais (Figura 1A, B). Quando em repouso, geralmente, ficam agrupados com a cabeça no sentido externo do agrupamento e, quando perturbadas, ficam bastante

ativas e começam a se deslocar em fileiras (Figura 1C). Essas observações de comportamento das larvas são semelhantes as relatadas por Lorini (1999), com *L. obliqua*, e em várias espécies do gênero *Hemileuca* ocorrentes na Califórnia (Tuskes, 1984). No final do último instar, na fase de pré-pupa, as larvas param de se alimentar, aumentando a espessura e diminuindo o comprimento do corpo, ficando levemente recurvadas e mais escuras na região dorsal do corpo (Figura 1D). Resultados semelhantes foram observados para outros Saturniidae, como *Dirphia rosacordis* e *Dirphia avicula* (Zanuncio *et al.*, 1992; 1994), *Dirphia araucariae* (Borges, 1985) e *Hylesia nanus* (Santos *et al.*, 1996).

O processo da transformação em pupa (Figura 1E) é muito rápido, demorando aproximadamente 60 min, desde o rompimento do tegumento da larva até a exúvia se liberar totalmente da pupa formada (Figura 1F). A larva empupa sobre o substrato, entre os restos vegetais da dieta que permanece nos recipientes onde se desenvolve, e a exúvia liberada permanece com aparência da larva.

Fase de Pupa. Esta é umas das fases mais críticas para a criação de *L. obliqua* em laboratório, pois a manutenção da umidade das pupas é fundamental para obtenção de adultos. Das 1022 pupas formadas foi possível obter 376 machos e 354 fêmeas de *L. obliqua*, que permitiram determinar o período pupal dos mesmos. As outras 292 pupas formadas inicialmente não chegaram a originar adultos, secando durante esta fase. A duração do período pupal que originou machos foi de 31,90 dias, enquanto que a duração do período de pupas para fêmeas foi de 33,56 dias; estes não diferindo significativamente entre si (Tabela 1). A pupa recém-formada apresenta coloração amarelada, escurecendo poucas horas depois (Figura 1F), sendo que no dia seguinte, apresentou a cor castanho-avermelhado, permanecendo nessa coloração até o final da fase pupal.

Tabela 1. Média (\pm DP) do período pupal (dias) e tempo (h) até a emergência dos adultos de *Lonomia obliqua* em laboratório, no período de 2001 a 2004

	Duração do período pupal (dias)			Tempo (h) na escotofase até emergir os adultos		
	N	Média (\pm DP)	Amplitude	N	Média (\pm DP)	Amplitude
Machos	376	31,90 \pm 5,03 a	(24-56)	264	3,57 (\pm 2,58) a	(1-11)
Fêmeas	354	33,56 \pm 5,18 a	(25-58)	311	3,72 (\pm 2,52) a	(1-11)

Média seguida de mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste “t,” ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados semelhantes foram observados na criação em laboratório de *Periga (Lonomia) circumstans* com $33,35 \pm 2,78$ dias para o período pupal (D’ Antonio, 1983). Para o período pupal de *Dirphia avicula* foram obtidos $64,81 \pm 0,44$ e $66,25 \pm 0,60$ dias para machos e fêmeas, respectivamente (Zanuncio *et al.*, (1994). Em *Dirphia araucariae* os machos tiveram período pupal de 52,75 e as fêmeas de 51,13 dias (Borges, 1985). Diferente período foi obtido para *Hylesia nanus* com 15,7 dias, em temperatura de 26°C (Santos *et al.*, 1996). Para Tuskes (1984), a maioria das espécies do gênero *Hemileuca* (Saturniidae) tem o estágio pupal variável de um a dois anos.

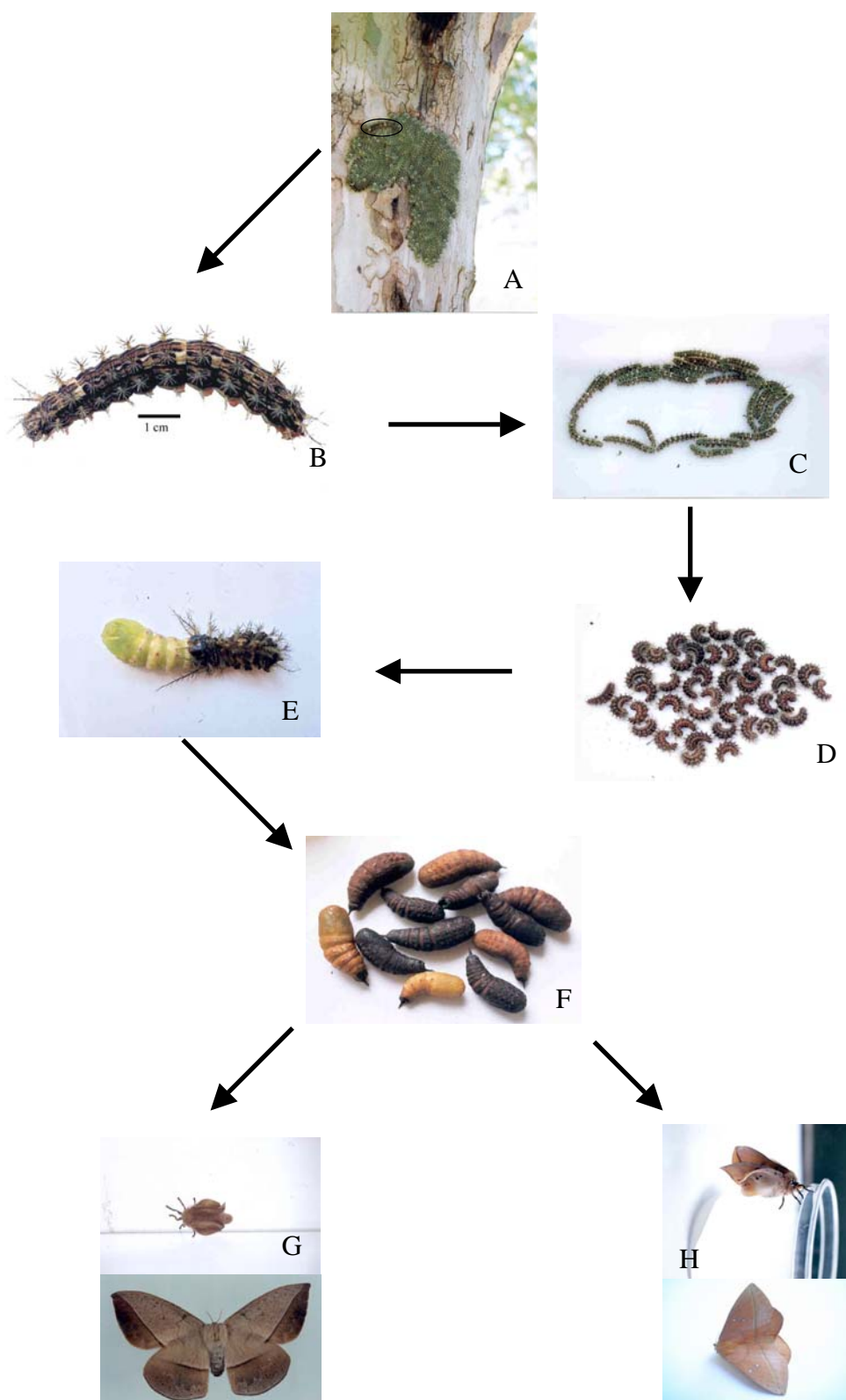


Figura 1. Diferentes fases do desenvolvimento de *Lonomia obliqua* em laboratório. A) colônia de larvas em *Platanus acerifolia*; B) larva de último instar; C) colônias de larvas em laboratório; D) larvas na fase de pré-pupa; E) larva formando a pupa; F) pupas; G) emergência das fêmeas; H) emergência dos machos.

Verificou-se que a amplitude de variação do período pupal de *L. obliqua* foi de 24 a 56 para machos e 25 a 58 para fêmeas, respectivamente (Tabela 1). Essa variação pode ser explicada pela possibilidade de existir duas gerações por ano de *L. obliqua*, conforme sugerido por Lorini (1999). A primeira geração acontece com o acasalamento dos adultos e postura dos ovos nas plantas a partir do mês de outubro, e o segundo no final do verão quando as pupas permanecem em diapausa durante os meses mais frios do ano. Esse evento foi observado em *D. rosacordis* onde os adultos coletados em março deram origem a pupas que permaneceram em diapausa, em laboratório, durante os meses de julho, agosto e setembro (Zanuncio *et al.*, 1992).

Em regiões com sazonalidade acentuada ao longo do ano, como no Estado do Rio Grande do Sul, ocorrem períodos desfavoráveis ao desenvolvimento de muitas espécies de insetos, os quais tem na diapausa uma forma de sobreviver nestas estações adversas. Isso permite, de certa forma, que as espécies sincronizem o seu desenvolvimento e a reprodução para períodos favoráveis, com disponibilidade de alimento e condições adequadas à sua sobrevivência.

Emergência dos adultos de *L. obliqua*. Ao emergirem, os adultos de *L. obliqua* apresentam as asas dobradas e de tamanho pequeno, levando aproximadamente 60 min para distendê-las totalmente e atingir a envergadura normal (Figuras 1G, 1H).

Verificou-se que a maioria dos adultos de *L. obliqua* emergiu durante a escotofase, com 70,2% dos machos e 87,8% das fêmeas emergindo nesta fase. Na fotofase houve a emergência de apenas 29,8% de machos e 12,2% de fêmeas. Observou-se um tempo inicial médio de 3,57h (\pm 2,58) para a emergência dos machos e 3,72h (\pm 2,52) para a emergência das fêmeas, a partir do início da escotofase (Figs 2, 3 e 4). Pela comparação do período de emergência na escotofase, entre machos e fêmeas, verificou-se não existir diferença significativa entre os valores encontrados (Tabela 1). Houve um sincronismo na emergência de machos e de fêmeas de *L. obliqua*, não sendo

observada a protandria (quando machos emergem antes das fêmeas). Nessa espécie a proporção de machos ($n= 376$) e fêmeas ($n= 354$) encontrados foi de 1,06:1, ou seja, emergiram 1,06 machos para cada fêmea, com uma razão sexual de 0,48. Resultados semelhantes foram encontrados para *H. nanus*, onde a razão sexual obtida foi de 0,50 (Santos *et al.*, 1996). Para *D. araucariae* foi de 0,47 (Borges, 1985) e em *D. avicula* foi de 0,48 (Zanuncio *et al.*, 1994).

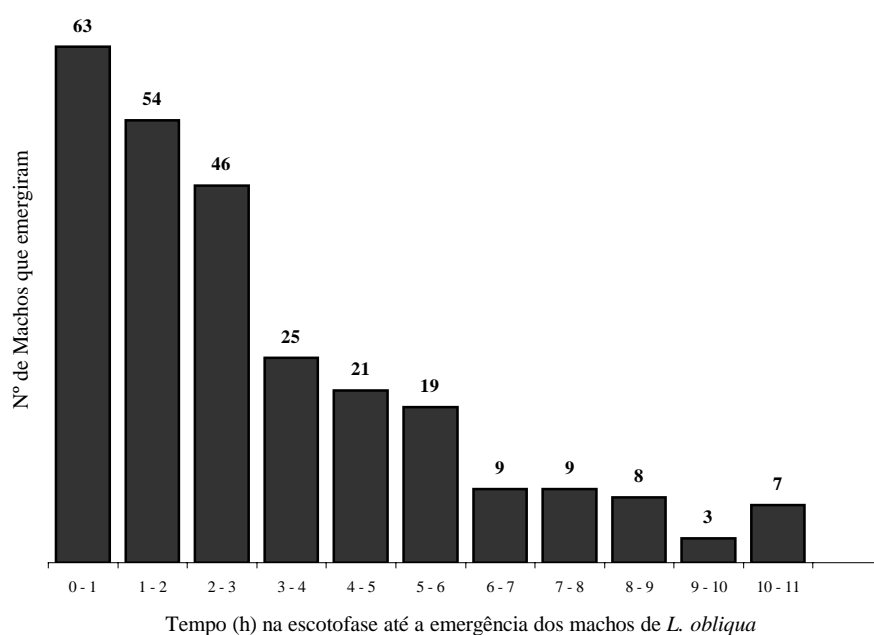


Figura 2. Tempo (h) na escotofase quando ocorreu a emergência de machos de *Lonomia obliqua* ($n= 264$).

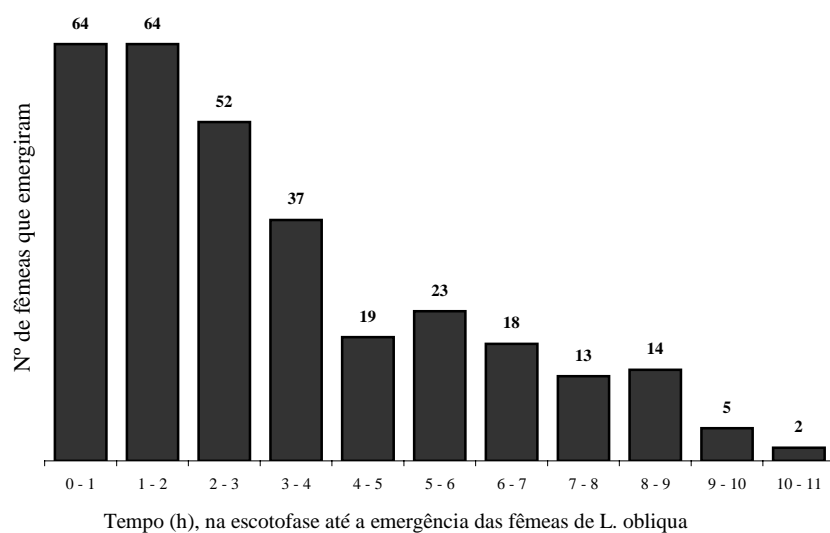


Figura 3. Tempo (h) na escotofase quando ocorreu a emergência de fêmeas de *Lonomia obliqua* (n= 311).

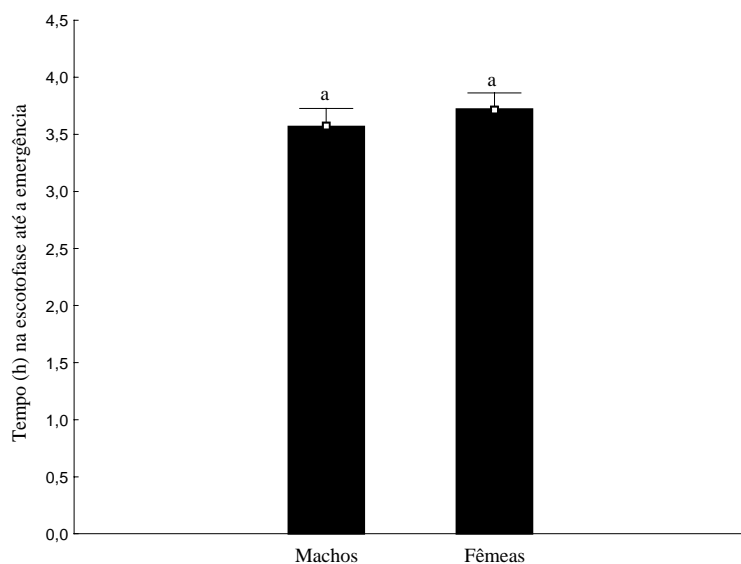


Figura 4. Tempo médio de emergência de machos (n= 264) e fêmeas (n= 311) de *Lonomia obliqua* na escotofase (Médias seguidas de mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste “t”, ao nível de 5% de probabilidade).

Salienta-se que os adultos da espécie não se alimentam, tendo por isso uma baixa longevidade, machos $5,94 (\pm 1,59)$ e fêmeas $7,69 \pm (2,27)$ dias, vivendo apenas para o acasalamento e, a fêmea para fazer as posturas (Lorini, 1999).

As condições nas quais os insetos são criados exercem influências importantes na fisiologia dos adultos, podendo afetar o seu comportamento reprodutivo, fecundidade e até mesmo fertilidade. A disponibilidade de alimento em condições naturais permite que as espécies tenham uma dieta de valor nutricional equilibrado e, conseqüentemente, melhor desenvolvimento. Assim, o sucesso desta técnica de criação pode ser verificado pela uniformidade dos casais obtidos.

Seguindo-se os procedimentos aqui descritos é possível obter adultos de *L. obliqua* que permita o estabelecimento de uma população em laboratório.

Literatura Citada

- Abella, H.B., J.B. Torres, M. da G.B. Marques, A.C. Duarte & E. Barros. 1998.** Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes por *Lonomia*. Porto Alegre, Centro de Informações Toxicológica do Rio Grande do Sul. 19p.
- Allen, D.C. 1976.** Biology of the green-striped mapleworm, *Dryocampa rubicunda* (Lepidoptera: Saturniidae) in the Northeastern United States. Ann. Entomol. Soc. America. 69: 857-862.

- Beutelspacher, C. R. 1986.** Ciclo de la vida de *Hylesia frigida* Schaus (Lepidoptera: Saturniidae), una plaga florestal en Chiapas. Anual do Instituto Biológico da Universidade Autônoma de Chapingo. 465-476p.
- Borges, J.D. 1985.** Biologia de *Dirphia araucariae*, em laboratório. Pesq. Agropec. Bras. 20: 155-158.
- Borges, J.D., M. F. Carneiro & A.A. Almeida. 1986.** Dados sobre as pupas e comportamento dos adultos de *Dirphia araucariae*. Pesq. Agropec. Bras. 21: 467-471.
- D’Antonio, A.M. 1983.** Biologia, nutrição quantitativa e danos de *Periga (Lonomia) circumstans* (Walker, 1855) (Lepidoptera: Attacidae) em Cafeeiro. Dissertação de Mestrado, Piracicaba, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP. 69p.
- Duarte, A.C., J. Caovilla, I. Lorini, D. Lorini, G. Mantovani, J. Sumida, P.C. Manfre, R. de C. Silveira & S. P. de Moura. 1990.** Insuficiência renal aguda por acidentes com lagartas. J. Bras. Nefrol. 12: 184-187.
- Fornés, L. & Hernández, J.V. 2000.** Algunos aspectos de la biología de *Hylesia metabus* (Cramer 1775) (Lepidoptera: Saturniidae). Bol. Entomol. Venez. 15: 127-145.
- Gardiner, B.O.C. 1967.** Rearing the larvae of *Lonomia cynira* (Saturniidae). J. Lepid. Soc. 21: 138-140.

- Hoffmann-Campo, C. B., E. B. de Oliveira, F. Moscardi. 1985.** Criação Massal da Lagarta da Soja (*Anticarsia gemmatalis*). Londrina. Embrapa-CNPSO. 23p.
- Jansen, D.H. 1982.** Guia para la identificacion de mariposas nocturnas de la familia Saturniidae del Parque Nacional Santa Rosa, Guanacaste, Costa Rica. Brenesia. 19/20: 255-299.
- Lorini, L. M. 1999.** A Taturana. Aspectos biológicos e morfológicos da *Lonomia obliqua*. Passo Fundo, EDIUPF, 67p.
- Lorini, L.M. & Corseuil, É. 2001.** Aspectos Morfológicos de *Lonomia obliqua* Walker, 1855 (Lepidoptera: Saturniidae) em laboratório. *Neotrop. Entomol.* 30: 373-378.
- Santos, G.P., T.V. Zanuncio, O.S. Dias & J.C. Zanuncio. 1996.** Biologia de *Hylesia nanus* (Walker) (Lepidoptera:Attacidae). An. Soc. Entomol. Brasil. 25: 479-482.
- Salvadori, J. R. & J. R. P. Parra. 1990a.** Desempenho de *Pseudaletia sequax* (Lepidoptera: Noctuidae) Em Dietas Natural e Artificiais. Pesq. Agropec. Bras. 25: 1679-1686.
- Salvadori, J. R. & J. R. P. Parra. 1990b.** Seleção de Dietas Artificiais para *Pseudaletia sequax* (Lep.: Noctuidae). Pesq. Agropec. Bras. 25: 1701-1713
- Schmid, J.M., P.A. Farrar & J.C. Mitchell. 1982.** Distribution of *Pandora* moth egg masses and pupae near Jacob Lake, Arizona. Environ. Entomol. 11: 701-704.

Silva, W.D. Da; A.C.R. Campos, L. R.C. Gonçalves, M.C. Souza-e-Silva, H.G. Higashi, I.K.

Yamagushi & E.M.A. Kelen. 1996. Development of antivenom against toxins of *Lonomia obliqua* caterpillars. Toxicon 34: 1045-1049.

Tuskes, P.M. 1984. The biology and distribution of California Hemileucinae (Saturniidae). J.

Lepid. Soc. 38: 281-309.

Zanuncio, J. C., L. G Batista, T.V. Zanuncio & W. L. Gasperazzo. 1992. Alguns aspectos de

biologia *Dirphia rosacordis* (Lepidoptera: Saturniidae) em folhas de eucalipto. Revista Árvore. 16: 112-117.

Zanuncio, T.V., J.C. Zanuncio, I. A. Meira, F.S. Araújo. 1994. Caracterização das fases larval e

adulta de *Dirphia avicula* (Lepidoptera: Saturniidae) em folhas de *Eucalyptus urophylla*. Revista Árvore. 18: 153-158.

CAPÍTULO II:

Comportamento de Acasalamento de Adultos de *Lonomia obliqua* Walker, 1855 (Lepidoptera: Saturniidae) em Laboratório

RESUMO- Com a finalidade de estudar a presença de feromônio sexual em *Lonomia obliqua* Walker, 1855 (Lepidoptera: Saturniidae), foi acompanhado o comportamento de acasalamento dos adultos da espécie em laboratório. Foram observados os movimentos de excitação, vôos e caminhamento dos machos em direção à fêmea, corte e acasalamento. Também foram registrados o horário e duração do acasalamento, e a idade das fêmeas neste comportamento. Entre os 16 casais observados, 75% procederam ao acasalamento, sendo que 83% das fêmeas acasalaram até as 24 horas após a emergência; 8,5% no período de 24 a 48 horas e 8,5% das 48 a 72 horas após a emergência. Um único acasalamento ocorreu para cada casal e o horário de início do acasalamento foi ao amanhecer do dia seguinte ao da emergência, no período entre 6 e 8h40min da manhã. A duração média dos acasalamentos foi de 896 ± 152 min, com a variação de 630 a 1.100min. No comportamento de corte e pré-acasalamento, o macho voou agitado, batendo as asas e distendendo as antenas, e caminhou em movimentos circulares ao redor da fêmea. Após um leve contato com a fêmea em chamamento, o macho se posicionou lateralmente a ela, colocando o ápice de seu abdômen no ápice do abdômen da fêmea, realizando o acasalamento. Ao acasalar-se, o macho dobra as asas e retorna suas antenas para junto do corpo. O comportamento observado neste estudo permite inferir que houve mediação de feromônios sexuais na atração da espécie. O etograma de corte e acasalamento é também apresentado.

PALAVRAS-CHAVE: Comportamento de corte, duração do acasalamento, período de acasalamento, etograma de corte e acasalamento, feromônio sexual.

Mating behaviour of *Lonomia obliqua* Walker, 1855 (Lepidoptera: Saturniidae) in laboratory conditions

ABSTRACT - Laboratory experiments studying the mating behaviour of adults *Lonomia obliqua* Walker, 1855 (Lepidoptera: Saturniidae) were performed in order to detect the presence of sexual pheromone in this species. The excitation movements, flights and behaviour of males towards females, courtship and mating were observed. The time and mating duration, and the mating age of females were verified. Among the 16 couples observed, 75% mated, and 83.0% of females mated up to 24 hours after the emergence; 8.5% between the 24th and 48th hour and another 8.5% between the 48th and 72nd hours after the emergence. Only one mating occurred for each couple and it started at daybreak in the day after the emergence, between 6 and 8h40min a.m. The mating's average duration was 896 ± 152 min, with an interval of 630 and 1100min. During the courtship and mating behaviour, the male flew excited, wing fanning and moving the antennae and walked around the female in circular movements. After an initial contact with the calling female, the male assumed a side position, moving the abdominal tip toward the female abdomen. During the mating, the male folded its wings and drew back its antennae towards its body. The behaviour observed in this study shows that there was mediation of sexual pheromones for the attraction of the species. The courtship and mating ethogram is also presented.

Key words: Courtship, behaviour, mating duration, mating time intervals, courting and mating ethogram, sex pheromone

Introdução

Os estudos mais específicos sobre o ciclo de vida, morfologia e alguns aspectos reprodutivos de *Lonomia obliqua* Walker, 1855 (Lepidoptera: Saturniidae) foram realizados por Lorini (1999), Lorini & Corseuil (2001) e Lorini *et al.* (2004). Os estudos sobre os Saturniidae são poucos, e resumem os aspectos da biologia e a extração da glândula de feromônio das fêmeas, com a identificação química dos compostos presentes na mesma. O trabalho de Moura *et al.* (1989), descreve o comportamento dos machos de *Dirphia* sp. (Saturniidae) em túnel de vento, quando na presença do feromônio sexual das fêmeas.

Informações a respeito do comportamento de lepidópteros-praga, incluindo horário de liberação de feromônio, acasalamento e atividade de vôo, podem ajudar no desenvolvimento de técnicas mais eficientes para atrair, capturar e manipular os adultos, e dessa forma controlá-los (Lingren *et al.*, 1977).

Em lepidópteros os eventos comportamentais e fisiológicos envolvidos no comportamento reprodutivo são coordenados temporalmente e, dessa forma ocorrem sincronizadamente sob condições favoráveis em ambientes heterogêneos (Webster & Cardé 1982). Ritmos diários do comportamento reprodutivo, tais como chamamento e liberação de feromônio, são usualmente endógenos e suas expressões e momentos de ocorrência são, geralmente, alterados por fatores exógenos, tipicamente fotoperíodo e temperatura (Sower *et al.*, 1971, Castrovillo & Cardé, 1979, West *et al.*, 1984).

Estudos verificando a idade das fêmeas e o horário de acasalamento já foram realizados em várias espécies de lepidópteros como por exemplo em *Diatraea saccharalis* e *Amyelois transitella* (Pyralidae), (Perez & Long 1964, Coffelt *et al.*, 1979). Em Tortricidae e Lyonetiidae o acasalamento ocorre ao entardecer, no início da escotofase (Lingren *et al.*, 1980, Bento *et al.*, 2001).

Em Gelechiidae (*T. absoluta*), os acasalamentos ocorrem ao amanhecer, no início da fotofase (Uchoa-Fernandes *et al.*, 1995, Hickel & Vilela, 1991, Hickel *et al.*, 1991). Em Saturniidae os acasalamentos podem ocorrer no entardecer ou ao amanhecer (Santos *et al.*, 1988, Fornés & Hernández, 2000, Lorini, 1999).

O objetivo desse trabalho foi descrever o comportamento sexual em condições de laboratório e, o acasalamento dos adultos de *L. obliqua*, visando a obtenção de informações importantes para a realização de extração e identificação do feromônio sexual da espécie. Com os resultados desse estudo pretende-se estabelecer um sistema de monitoramento da espécie em seu habitat natural, adotando medidas que possam prevenir os acidentes causados pela mesma.

Material e Métodos

O experimento iniciou com as larvas de *L. obliqua* coletadas no habitat natural em vários municípios do Norte do Estado do Rio Grande do Sul, e que foram mantidas laboratório de entomologia da Universidade de Passo Fundo. As colônias de larvas foram colocadas em recipientes plásticos (18 cm x 25 cm) com a tampa ventilada, e foram mantidas em sala de criação a $25 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, $65\% \pm 15\%$ de UR e fotofase de 12h. As larvas foram alimentadas com dieta natural, folhas de plátano (*Platanus acerifolia*), até a transformação em pupas. As pupas foram individualizadas em recipientes plásticos (8 cm x 7 cm), revestidos com papel filtro e cobertos com tela de náilon. Foram mantidas em câmara climatizada tipo BOD a $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, $65\% \pm 15\%$ de UR e fotofase de 13h. Os recipientes foram borrifados diariamente com água destilada para manter a umidade. Registrou-se diariamente o horário de emergência dos adultos a cada 20min, a partir do início da escotofase.

Os adultos após a emergência foram individualizados e, posteriormente, agrupados em casais para a observação do comportamento de corte e acasalamento. Antes dos bioensaios, machos e fêmeas foram mantidos em ambientes separados, para evitar qualquer interferência no comportamento dos mesmos (Shorey, 1976). Para realizar o experimento cada casal foi colocado em gaiolas de papelão (50 cm x 50 cm com aberturas de 20 cm x 25 cm em duas laterais das gaiolas), as quais, foram revestidas com tela de náilon. Essas foram mantidas em laboratório com temperatura de $25 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, $65\% \pm 15\%$ de UR e luz natural. Foram acompanhados 16 casais os quais foram observados durante todo o comportamento de corte e, a cada 30min durante os acasalamentos. Os parâmetros observados foram: comportamento dos machos na presença das fêmeas na gaiola, como excitação e movimentos circulares a partir do toque na fonte (fêmea); vôos em volta da fêmea; caminhar característico em direção à fêmea; corte e acasalamento. Registrou-se o início e término dos acasalamentos, percentual de casais que acasalaram, idade em que cada fêmea acasalou, e a duração do acasalamento em laboratório. Com base nestes eventos, elaborou-se o etograma de corte e de acasalamento, tanto das fêmeas como dos machos da espécie.

Resultados e Discussão

Dos 16 casais estudados, 75% acasalaram e os outros 25%, apesar de apresentarem alterações no comportamento não chegaram a acasalar (Fig. 1).

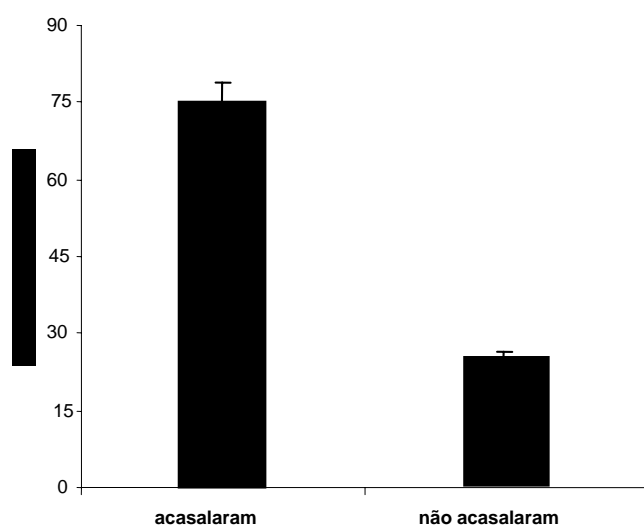


Figura 1. Percentual de acasalamento de casais de *Lonomia obliqua* em laboratório (n= 16).

Observou-se que os adultos de *L. obliqua* acasalaram apenas uma vez e o acasalamento foi contínuo, similar ao observado em *Thyrintina arnobia* (Geometridae) (Batista-Pereira *et al.* 2004). Outros Saturniidae acasalaram também uma só vez, como *H. lineata* e *H. metabus* (Janzen, 1984; Fornés & Hernández, 2000). O mesmo foi verificado para insetos de outras famílias, como a *Tuta absoluta* (Gelechiidae) (Uchoa-Fernandes *et al.*, 1995). Em *Diatraea saccharalis* (Pyralidae), a maioria, (93%) das fêmeas coletadas no campo tinham acasalado somente uma vez (Perez & Long, 1964). Os autores verificaram que a maioria das fêmeas da espécie cessaram por completo a atratividade após o acasalamento. Em laboratório, várias fêmeas de *Cydia pomonella* (Tortricidae) acasalaram de quatro a sete vezes, enquanto que no campo, poucas fêmeas tinham acasalado mais de duas vezes (Gehring & Madsen, 1963). A alta incidência de acasalamentos em laboratório foi atribuída ao fato das fêmeas estarem confinadas em gaiolas e pela falta de ventilação no ambiente. Dessa forma, a concentração de feromônio presente no interior das gaiolas estava muito alta, e a pouca distância entre os insetos propiciou um maior número de acasalamentos. Em *Ecdytolopha*

aurantiana, 95% dos casais acompanhados acasalaram até o 7º dia de vida, sendo que a maioria acasalou entre o 3º e 4º dia de vida (Bento *et al.* 2001).

Quanto à idade em que cada fêmea acasalou em laboratório, obteve-se que 83% acasalaram até 24 h após a emergência; 8,5% no período de 24 a 48 h e 8,5% das fêmeas acasalaram de 48-72 h após a emergência (Fig.2).

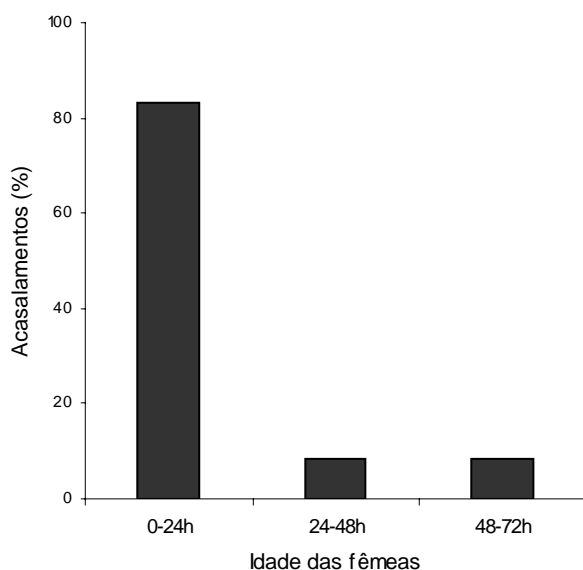


Figura 2. Percentual de fêmeas de *Lonomia obliqua* que procederam ao acasalamento, em diferentes idades, em laboratório (n= 12).

Esse resultado confere com a idade em que o maior percentual de fêmeas procedeu ao primeiro chamamento na escotofase, onde se obteve que 70,6% das fêmeas de *L. obliqua* chamaram até as 24h após a emergência. Horários semelhantes foram obtidos com *Periga (Lonomia) circumstans*, onde os adultos, em laboratório, acasalaram sempre na noite seguinte à emergência (D' Antônio, 1983).

A maioria dos acasalamentos em *L. obliqua* iniciou ao amanhecer, no final da escotofase, no dia seguinte ao da emergência, iniciando-se no período entre 6 e 9h da manhã (Fig.3).

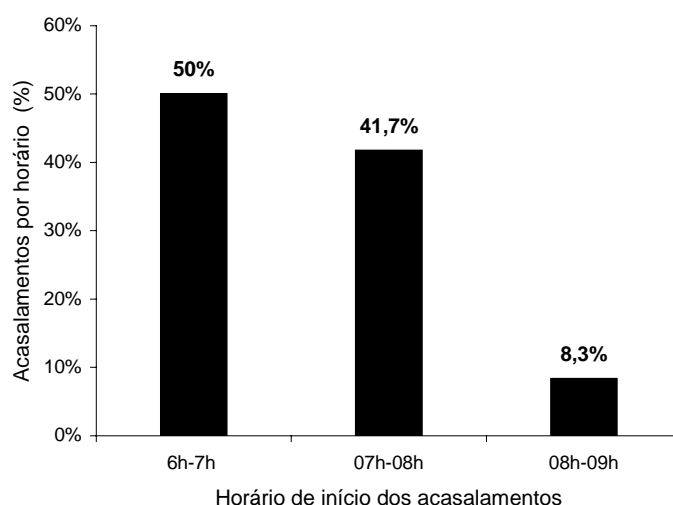


Figura 3. Horário de início dos acasalamentos dos adultos de *Lonomia obliqua* em laboratório.

Resultados semelhantes foram obtidos em *Hylesia lineata* (Saturniidae), onde os casais amanheceram acasalados e permaneceram juntos durante todo o dia (Janzen, 1984;). Para outros Saturniidae, o acasalamento ocorreu mais no período da noite como em *Hylesia nanus*, onde as fêmeas acasalaram nas primeiras horas da noite, concentrando-se no horário das 18 às 20h (Santos *et al.*, 1988). Em *Hylesia metabus*, o início do acasalamento foi verificado entre 21h37min e 00h52min (Fornés & Hernández, 2000). Nessa espécie, mais de 60% dos acasalamentos ocorreram nas primeiras 12h após a emergência, apresentando variações expressivas na atratividade das fêmeas, dependendo das condições do ambiente (Gehring & Madsen, 1963).

Estudos com *Tuta (Scrobipalpuloides) absoluta* (Gelechiidae) mostraram que as fêmeas são sexualmente maduras já no primeiro dia de vida, pois chamaram logo após a emergência, e os acasalamentos ocorreram entre 6:00 e 7h da manhã (Hickel *et al.*, 1992, Uchoa-Fernandes, 1995). Com a mariposa *Bucculatrix thurberiella* (Lyonetiidae), a maior atratividade em laboratório ocorreu entre 23 e 03h, com o pico dos acasalamentos ocorrendo entre as 24 e 01h (Lingren *et al.*, 1980). No estudo de *E. aurantiana*, os acasalamentos ocorreram no período entre 17 e 21h com o pico

entre 19 e 20h (Bento *et al.*, 2001). Em testes no campo, usando armadilhas iscadas com fêmeas virgens de *Platynota stultana* (Tortricidae), foi verificado que as fêmeas de dois dias de idade foram mais atrativas, não havendo acasalamentos em fêmeas com mais de quatro dias de idade (AliNiazee & Stafford, 1971).

Embora a maioria dos lepidópteros acasale até o quarto dia de vida, há relatos de que algumas espécies fazem-no por períodos bem mais longos. Callahan (1958), observou que todos os acasalamentos de *Heliothis zea* (Noctuidae), ocorreram entre a segunda e a sétima noite após a emergência.

Em *Sesamia nonagrioides* (Noctuidae) os acasalamentos ocorreram todos até a terceira escotofase, período esse, onde foi registrado também o máximo de chamamento pelas fêmeas, as quais cessaram o mesmo, por completo, após o acasalamento. Nessas fêmeas acasaladas até três dias de idade, foi verificado que a quantidade de feromônio presente nas glândulas era significativamente menor do que a encontrada em fêmeas virgens com a mesma idade. Dessa forma, as fêmeas acasaladas tornaram-se menos atrativas para os machos, porém, apresentaram comportamento semelhante às fêmeas velhas que continuaram virgens (Babilis & Mazomenos, 1992). A correlação entre o chamamento das fêmeas e o acasalamento com a produção de feromônio também foi observada para *Choristoneura rosaceana* (Lep.: Tortricidae) Delisle & Royer, 1994).

Giebultowicz *et al.* (1990), sugeriram que o mecanismo que controla a mudança no comportamento das fêmeas virgens de *Lymantria dispar* (Noctuidae), iniciando o comportamento de acasalamento, está localizado dentro da própria fêmea, embora isso só seja desencadeado pelo acasalamento.

A idade do inseto ao acasalar, tanto machos como fêmeas, tem se revelado fundamental para a obtenção de altas taxas de fecundidade e viabilidade dos ovos. Michereff *et al.* (2004), relataram

que taxas mais altas de fecundidade e viabilidade dos ovos de *Leucoptera coffeella* (Lyonetiidae), foram registradas em fêmeas acasaladas com idade de um a três dias. Ao acasalarem com cinco dias de idade, as fêmeas apresentaram uma redução de 40% na taxa de oviposição e de 43% na viabilidade dos ovos. Os autores também salientaram que fêmeas que acasalaram com machos virgens de dois dias de idade foram mais fecundas que aquelas que acasalaram com machos mais velhos pois neste caso, a viabilidade dos ovos também foi reduzida. Além da idade, o próprio acasalamento interfere no processo reprodutivo da maioria dos lepidópteros (Michereff *et al.*, 2004).

A duração média dos acasalamentos de *L. obliqua* obtida em laboratório, foi de 896 min \pm 152min, com um intervalo entre 630 a 1.100min. O longo período de acasalamento dessa espécie foi semelhante à duração observada em *H. metabus* que foi de 578min (Fornés & Hernández, 2000). Resultados diferentes foram encontrados em *Bucculatrix thurberiella* (Lyonetiidae), onde foi registrado uma duração média no acasalamento da espécie de 300min (Lingren *et al.*, 1980), e para *T. absoluta* a duração média obtida nos acasalamento foi de 285min, com uma variação de 90 a 640 min (Uchoa-Fernandes *et al.*, 1995). Para *E. aurantiana* a duração média ficou em 101,5 \pm 62,1min com um intervalo de 3 a 312min (Bento *et al.*, 2001).

As observações dos casais de *L. obliqua*, nas gaiolas de acasalamento, permitiram a elaboração do etograma do comportamento de corte e acasalamento da espécie. O comportamento verificado está descrito nas Figs. 4 e 5.

No início do processo de corte e acasalamento, o macho realizou pequenos vôos gaiola, provavelmente, devido a percepção do feromônio da fêmea. A fêmea movimentou-se pelas paredes da gaiola batendo as asas, depois pousou na tela da parede da gaiola, movimentando lentamente o abdômen, abriu as asas e expôs os últimos segmentos abdominais. O ovipositor foi externado, em protrusões lentas até expor totalmente a glândula de feromônio sexual. O macho voou pela gaiola,

em seguida caminhou em zigue-zague, batendo as asas e com as antenas distendidas realizando movimentos em círculo em volta da fêmea. Esse comportamento foi demonstrado sempre nas proximidades da fêmea em postura de chamamento, e, na maioria das vezes, levou o macho a encontrá-la. Nem sempre o macho encontrou a fêmea em postura de chamamento, nesse caso, a tentativa de acasalamento não tinha sucesso e a fêmea se afastou do mesmo. Após um leve contato com o abdômen da fêmea em posição de chamamento, o macho se posicionou lateralmente a ela. Na seqüência, o macho colocou o ápice de seu abdômen no ápice do abdômen da fêmea, girou o corpo ficando no sentido contrário à fêmea e realizou o acoplamento. (Figs. 4, 5 A-F; 6 A e B).

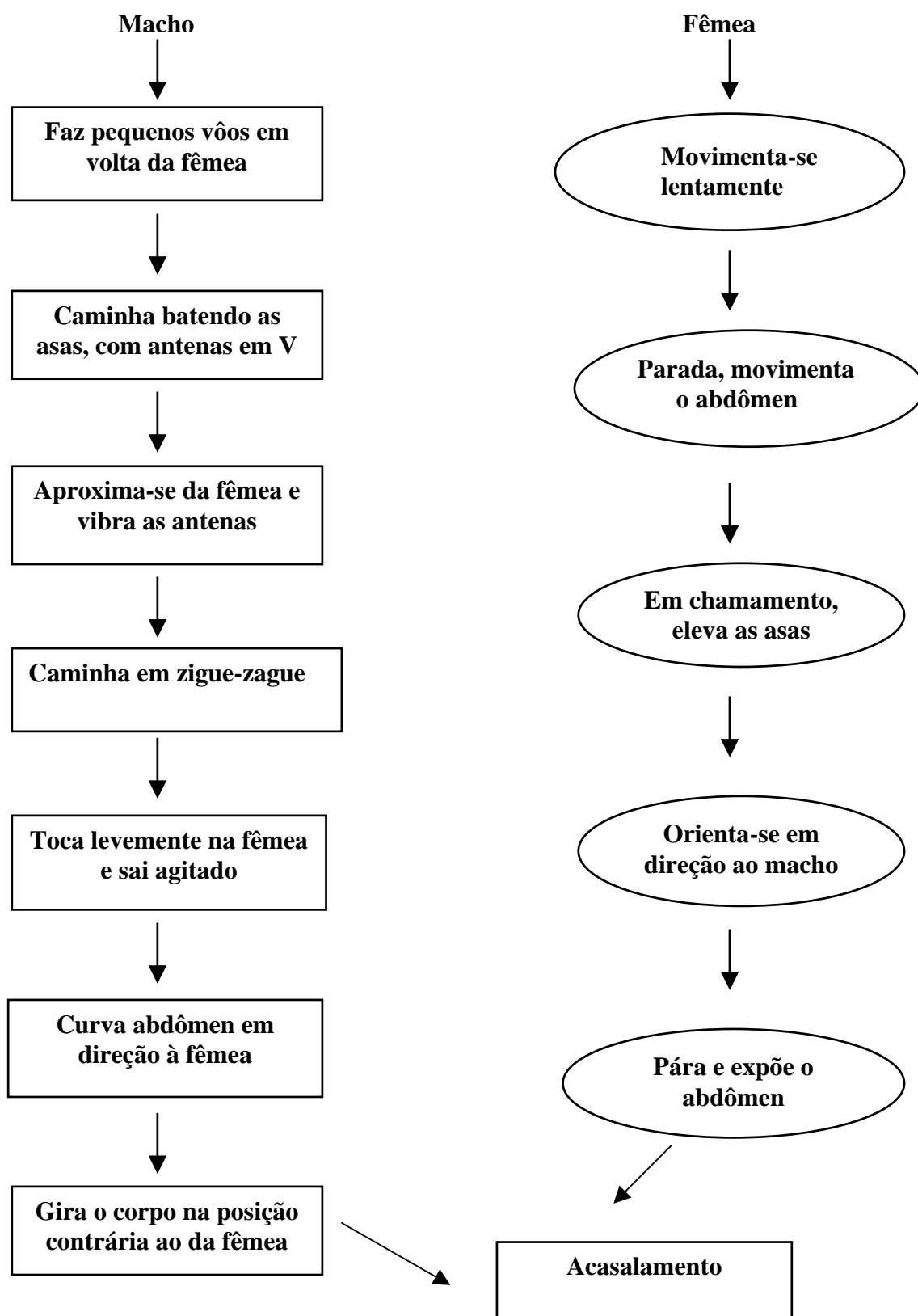


Figura 4. Sequência comportamental (etograma) de macho e fêmea de *Lonomia obliqua* para o acasalamento.

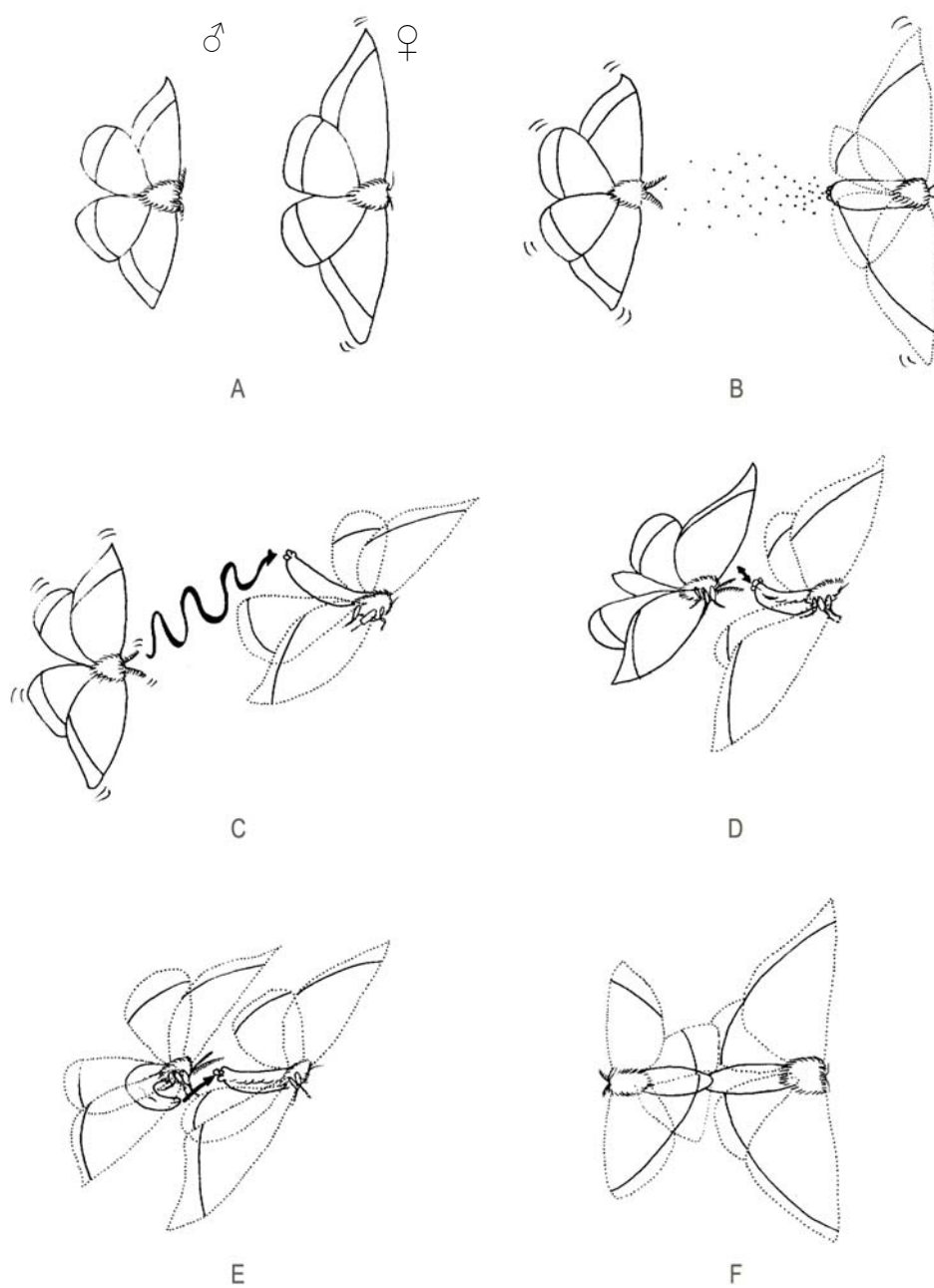


Figura 5. A-F. Sequência comportamental da corte e acasalamento dos adultos de *Lonomia obliqua* em laboratório (n=12)

O processo de corte e acasalamento, observados nos machos de *L. obliqua*, são semelhantes aos descritos para outros lepidópteros. Principalmente o caminhar batendo as asas e o posicionamento lateral à fêmea, com encurvamento anterior do abdômen durante a tentativa de acasalamento. Esta sequência de eventos é bem semelhante à relatada para *Trichoplusia ni*, Kaae & Shorey (1972); *Heliothis virescens*, Lingren *et al.* (1977); *Cydia pomonella*, Castrovillo & Cardé (1980); *L. dispar*, Charlton & Cardé (1990) e *T. absoluta*, Hickel *et al.* (1991).



Figura 6. Adultos de *Lonomia obliqua* em posição de acasalamento; A- vista ventral; B- vista dorsal.

Os casais de *L. obliqua* permaneceram imóveis durante todo o período de acasalamento. Nos dias seguintes ao acasalamento, a fêmea faz até três posturas, e por isso, apresenta uma longevidade um pouco maior do que o macho (Lorini, 1999). Estudos anteriores mostraram que a longevidade média dos machos da espécie foi de 5,9 dias (4 - 9 dias); para as fêmeas foi obtida uma média de 7,7 dias (4 - 14 dias) (Lorini, 1999; Lorini & Corseuil, 2001). Provavelmente, essa longevidade curta dos adultos de *L. obliqua* pode estar relacionada ao fato desses lepidópteros não se alimentarem nessa fase (Scoble, 1992). É bem possível que os adultos dessa espécie utilizem toda a energia acumulada na fase larval na dispersão, no longo período de acasalamento e, para as fêmeas, na oviposição.

As informações obtidas no comportamento de acasalamento dos adultos de *L. obliqua*, serão de grande relevância para o processo de isolamento e identificação do feromônio sexual da espécie.

Literatura Citada

- AliNiazee, M.T. & E.M. Stafford. 1971.** Evidence of a sex pheromone in the omnivorous leafroller, *Platynota stultana* (Lep.: Tortricidae) laboratory and field testing of male attraction to virgin females. *Ann. Entomol. Soc. America* 64: 1330-1335.
- Babilis, N.A., B.E. Mazomenos 1992.** Pheromone production in *Sesamia nonagrioides*: diel periodicity of age and mating. *J. Insect Physiol.* 38: 561-564.
- Batista-Pereira, L.G., C.F.Wilcken, S.D. Pereira Neto & E. N. Marques. 2004.** Comportamento de chamamento de *Thyrinteina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae) em *Psidium guajava*, *Eucalyptus grandis* e em dieta artificial. *Neotrop. Entomol.* 33: 21-28.
- Bento, J.M.S., J.R.P. Parra, E.F.Vilela, J.M.Walder & W.L.Leal. 2001.** Sexual behaviour and diel activity of Citrus Fruit Borer *Ecdytolopha aurantiana*. *J. Chem. Ecol.* 27: 2053-2065.
- Callahan, P.S. 1958.** Behaviour of the imago of the corn earworm *Heliothis zea* (Boddie), with special reference to emergence and reproduction. *Ann. Entomol. Soc. America* 51: 271-283.
- Charlton, R.E. & R.T. Cardé. 1990.** Behavioral interactions in the Courtship of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae). *Ann. Entomol. Soc. America* 83: 89-96.

- Castrovillo, P.J. & R.T. Cardé. 1979.** Environmental regulation of female calling and male pheromone response periodicities in the codling moth (*Laspeyresia pomonella*). J. Insect Physiol. 25: 659-667.
- Castrovillo, P.J. & R.T. Cardé. 1980.** Male Codling moth (*Laspeyresia pomonella*) orientation to visual cues in the presence of pheromone and sequences of courtship behaviours. Ann. Entomol. Soc. America. 73: 100-105.
- Coffelt, J.A., K.W. Vick, L.L. Sower & V.T. McClellan. 1979.** Sex pheromone mediated behavior of the navel orangeworm, *Amyelois transitella*. Environ. Entomol. 8: 587-590.
- D'Antonio, A. M. 1983.** Biologia, Nutrição quantitativa e danos de Periga (*Lonomia*) *circumstans* Walker, 1855 (Lepidoptera: Attacidae) em cafeeiro. Dissertação de Mestrado, ESALQ/USP, Piracicaba, 69p.
- Delisle, J. & L. Royer. 1994.** Changes in pheromone titer of oblique-banded leafroller *Choristoneura rosaceana*, virgin females as a function of time of day, age, temperature. J. Chem. Ecol. 20: 1431-1441.
- Duarte, A.C., A.J. Caovilla, I. Lorini, D. Lorini, G. Mantovani, J. Sumida, P.C. Manfre, Silveira & R.C. Moura. 1990.** Insuficiência renal aguda por acidentes com lagartas. J. Bras. Nefrol. 12: 184-187.

- Fornés, L. & Hernández, J.V. 2000.** Algunos aspectos de la biología de *Hylesia metabus* (Cramer 1775) (Lepidoptera: Saturniidae). Bol. Entomol. Venez.. 15: 127-145.
- Gehring, R.D. & H. F. Madsen. 1963.** Some Aspects of the Mating and Oviposition Behaviour of the Codling Moth *Carpocapsa pomonella*. J. Economic Entomol. 56: 140-143.
- Giebultowicz, J.M., A.K. Raina & E.C. Uebel. 1990.** Mated-like behaviour in senescent virgin females of gypsy moth *Lymantria dispar*. J. Insect Physiol. 36: 495-498.
- Hickel, E.R. & E.F. Vilela. 1991.** Comportamento de chamamento e aspectos do comportamento de acasalamento de *Scrobipalpuloides absoluta* (Lepidoptera:Gelechiidae). An. Soc. Entomol. Brasil 20: 173-182.
- Hickel, E.R., E.F. Vilela, J.O.G. de Lima & T.M.C. Della Lúcia, 1991.** Comportamento de acasalamento de *Scrobipalpuloides absoluta* (Lepidoptera:Gelechiidae). Pesq. Agropec. Bras.. 26: 827-835.
- Hickel, E.R., E.F. Vilela, J.O.G. de Lima, & T.M.C. Della Lúcia. 1992.** Calling behavior of the tomato leafminer *Scrobipalpuloides absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Revta. Bras. Ent. 36: 277-280.
- Janzen, D.H. 1984.** Natural history of *Hylesia lineata* (Saturniidae: Hemileucinae) in Santa Rosa National Park, Costa Rica. J. Kans. Entomol. Soc. 57: 490-514.

- Kaae, R.S. & H.H. Shorey. 1972.** Sex Pheromone of Noctuid Moths. XXVII. Influence of wWind velocity on sex pheromone releasing bBehavior of *Trichoplusia ni* females. Ann. Entomol. Soc. America 65: 436-440.
- Lemaire, C. 2002.** The Saturniidae of America (Les Saturniidae Americans) Hemileucinae. Part A. Keltern, Goecke & Evers, 688 p.
- Lingren, P.D., G.L. Grene, D.R. Davis, A.H. Baumhover & T.J. Henneberry. 1977.** Nocturnal behavior of four lepidopteran pest that attack tobacco and other crops. Ann. Entomol. Soc. America 70: 161-167.
- Lingren, P.D., T.J. Hnneberry & N.A. Bariola. 1980.** Nocturnal behaviour of adult cotton leafperforator's in cotton. Ann. Entomol. Soc. America 73: 44-48.
- Lorini, L.M. 1999.** A taturana, aspectos biológicos e morfológicos da *Lonomia obliqua*. Passo Fundo, Ediupf, 67p.
- Lorini, L.M. & É. Corseuil. 2001.** Aspectos morfológicos de *Lonomia obliqua* Walker, 1855 (Lepidoptera: Saturniidae) em laboratório. Neotrop. Entomol. 30: 373-378.
- Lorini, L.M., G.S., Rebelato, J. Bonatti. 2004.** Reproductive parameters of *Lonomia obliqua* Walker, 1855, (Lepidoptera: Saturniidae) in laboratory. Braz. arch. biol. technol. 47: 575-577.

- Michereff, M.F.F., E.F. Vilela, M. Michereff Filho, D.M.S. Nery & J.T.Tièbaut. 2004.** Effects of delayed mating and male mating history on the reproductive potential of *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). Agric. Forest Entomol. 6: 241-247.
- Moura, José, I., E. F. Vilela & N. dos A. Silva. 1989.** Construção de Túnel- de- Vento para o estudo do Comportamento Sexual de Lepidópteros. An. Soc. Ent. Brasil 18: 275-282.
- Perez, Raphael & W.H. Long. 1964.** Sex attractant and mating behaviour in the sugarcane borer. J. Econ. Entomol. 57: 688-690.
- Santos, G.P., N. dos Anjos & J.C. Zanuncio. 1988** Biologia de *Hylesia nanus* (Walker) (Lepidoptera: Attacidae), desfolhadora de Cutieira (*Joannesia princeps*: Euphorbiaceae). Rev. Ceres 35: 479-485.
- Scoble, M.J. 1992.** The Lepidoptera Form, Function and Diversity. New York, Oxford University Press, 404 p.
- Shorey, H. H. 1976.** Animal Communication by Pheromones. New York, Academic Press, 167p.
- Sower, L.L., L.K. Gaston & H.H. Shorey. 1971.** Sex Pheromone of Noctuid Moths. XXVI. Female Release Rate, Male Response Threshold, and Communication Distance for *Trichoplusia ni*. Ann. Entomol. Soc. America 64: 1448-1455.

- Uchoa-Fernandes, M., T.M.C. Della Lucia & E.F.Vilela. 1995.** Mating oviposition and Pupation of *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyr.) (Lepidoptera: Gelechiidae). An. Soc. Entomol. Brasil 24: 159-163.
- Webster, R.P. & R.T. Cardé. 1982.** Relationships among pheromone titre calling and age in the omnivorous leafroller moth (*Platynota stultana*). J. Insect Physiol. 28: 925-933.
- West, R.J., P.E.A. Teal, J.E. Laing & G.M Grant,. 1984.** Calling behaviour of the potato stem borer, *Hydraecia micacea* Esper (Lepidoptera: Noctuidae) in the laboratory and the field. Environ. Entomol. 13:1399-1404.

CAPÍTULO III:

Comportamento de chamamento e estudos sobre o feromônio sexual em

***Lonomia obliqua* Walker, 1855 (Lep.: Saturniidae)**

RESUMO - O objetivo deste trabalho foi estudar o comportamento de chamamento das fêmeas de *Lonomia obliqua* Walker, 1855 (Lepidoptera:Saturniidae) em laboratório e verificar a mediação por semioquímicos na reprodução da espécie. As comparações do comportamento de chamamento foram feitas usando-se a idade de chamamento, sendo que o padrão de chamamento individual das fêmeas, observado a cada 10 min, variou em dias sucessivos. A idade em que as fêmeas iniciaram o chamamento, após a emergência, variou de 1h10min a 51h30min após a emergência com média de 13h58min ($\pm 12h36min$). Durante os dias de observação, 87,5% das fêmeas chamaram e 100% dos chamamentos ocorreram durante a escotofase. Das fêmeas ativas, 70,6% chamaram pela primeira vez até 24h; 27,8% de 24 à 48h e 1,6% de 48 à 72h de vida. A maioria das fêmeas iniciou o chamamento aos 360min da escotofase, no primeiro dia, antecipando o seu início à medida que envelheciam, passando a iniciar o chamamento aos 290min no sexto dia. A média do Tempo Total de Chamamento por Fêmea (TTCF) foi de 212min ($\pm 99min$). No 1º dia, a duração média do chamamento foi de 191min ($\pm 97min$), aumentando para 262min ($\pm 127min$) nas fêmeas de seis dias de idade. Observou-se que 92,3% das fêmeas chamaram uma vez por dia, 7,2% duas vezes e 0,3% chamaram três vezes ao dia. O maior percentual de fêmeas chamando (40%) ocorreu no 3º dia após a emergência, entre a 6ª e a 7ª hora do início da escotofase. Com base nessas informações, a glândula de feromônio sexual de fêmeas virgens de um a três dias de idade foi extraída no horário de pico de chamamento. As análises eletrofisiológicas realizadas em GC-EAD, indicaram a existência de, pelo menos, dois componentes ativos nos extratos de glândulas. Bioensaios em olfatômetros mostraram uma forte resposta dos machos da espécie aos extratos de glândulas, evidenciando a necessidade de mais estudos sobre o feromônio sexual de *L. obliqua*.

PALAVRAS-CHAVE: Taturana, glândula de feromônio sexual, GC-EAD, bioensaios em olfatômetro.

Calling behaviour and studies of sexual pheromone in *Lonomia obliqua* Walker, 1855

(Lepidoptera: Saturniidae)

ABSTRACT - The aim of this study was to verify the pheromone mediation in the mating behaviour of *Lonomia obliqua* Walker, 1855 (Lepidoptera: Saturniidae) through the calling behaviour of females in the laboratory. Comparisons of the calling behaviour have been done using the age of calling and showed that the calling pattern of each female, observed in 10min intervals, changed in successive days. The age in which the virgin females started the calling after the emergence varied from 1h10min to 51h30min, with an average of 13h58min (\pm 12h36min). During the observation period, 87.5% of the females called and that occurred only during scotophase. Moreover, 70.6% of the active females called for the first time up to 24h of life; 27.8% called from the 24th to 48th hour and only 1.59% called between the 48th and 72nd hours. The majority of the females started calling on the 360th min of scotophase at the first day, anticipating the calling as they aged. The females with 6 days started the calling on the 290th min. The average of Total Calling Female Time (TCFT) observed was 212min (\pm 99min). In the females at the first day, the average of the calling duration was 191min (\pm 97min), increasing to 262min (\pm 127min) for the females of 6 days. The majority (92.3%) of females called once a day, 7.2% twice and 0.3% three times a day. The main percentage of calling females (40%) was on the third day after its emergence and between the 6th and 7th hour of the scotophase. Following that the sexual pheromone gland was extracted from virgin females of 1 to 3 days, at the peak of calling. The electrophysiological analyses carried out in GC-EAD showed the presence of at least two active compounds in the gland extracts. Olfactometers bioassays showed strong male response to the gland extracts, demonstrating the need of further studies about the sexual pheromone of *L. obliqua*.

KEY WORDS: Hemorrhagic caterpillar, sexual pheromone gland, GC-EAD, olfactometer.

Introdução

Os estudos mais específicos sobre o ciclo de vida, morfologia e alguns aspectos reprodutivos de *Lonomia obliqua* Walker, 1855 (Lepidoptera:Saturniidae) foram conduzidos por Lorini (1999); Lorini & Corseuil, (2001) e Lorini *et al.* (2004). As pesquisas sobre feromônios sexuais em Saturniidae registram poucas observações sobre o comportamento, sendo focadas diretamente na extração da glândula de feromônio das fêmeas e na identificação estrutural de seus compostos biologicamente ativos. Os feromônios sexuais já identificados em Saturniidae são referentes às espécies do gênero *Hemileuca*, (McElfresh & Millar 1999a; 1999b e 1999c; McElfresh *et al.*, 2001b); *Antheraea polyphemus* (Kochansky *et al.*, 1975); *Nudaurelia cytherea* (Henderson *et al.*, 1973); *Antheraea pernyi* e *Samia cynthia ricini* (Bestmann *et al.*, 1989). O objetivo desse trabalho foi descrever o comportamento de chamamento de *L. obliqua* e verificar, em laboratório, a mediação por semioquímicos na atratividade dos adultos da espécie. Pretende-se futuramente, através da utilização de feromônios sexuais, monitorar a ocorrência da espécie em seu habitat natural, visando estabelecer medidas que possam prevenir os acidentes causados por esse inseto.

Material e Métodos

Obtenção e criação dos insetos

Os adultos utilizados nos bioensaios de comportamento foram obtidos a partir de larvas coletadas em municípios da região Norte do Estado do Rio Grande do Sul. As larvas foram mantidas em sala climatizada, com temperatura média de $25 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$ e $65 \pm 15\%$ de UR, alimentadas com folhas de plátano (*Platanus acerifolia*) até a transformação em pupas. As pupas foram transferidas para recipientes plásticos, de 8 x 3cm, forrados com várias camadas de papel filtro, sendo mantidas em

câmara climatizada tipo BOD, com temperatura média de $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$; $65 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 13h, até a emergência dos adultos. Os potes com as pupas foram umedecidos diariamente, registrando-se a emergência dos adultos a partir do início da escotofase (conforme referido no cap. I). Após a emergência, os insetos foram sexados conforme metodologia descrita por Lorini (1999).

Comportamento de chamamento das fêmeas

As fêmeas virgens de *L. obliqua* foram transferidas para uma sala com temperatura de $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, $65 \pm 15\%$ UR e fotofase de 13h. Para se observar o comportamento de chamamento, as fêmeas foram individualizadas em gaiolas feitas de tubos plásticos (PVC) medindo (15 x 10 cm) fechadas de um lado com vidro transparente e do outro com uma tela de náilon. Todas as fêmeas foram observadas durante a escotofase, desde a sua emergência até a morte. Para observar-se o comportamento das fêmeas, utilizou-se uma lanterna coberta com três camadas de papel celofane vermelho, mantida a uma distância de aproximadamente 80cm da gaiola.

Visando determinar a idade de início do chamamento, foram observadas 126 fêmeas virgens, desde a sua emergência, durante escotofase. Destas, foram selecionadas 65 fêmeas que mantiveram-se chamando até o 6º dia, para determinar o padrão de chamamento da espécie. As observações foram feitas a cada dez minutos, na escotofase, desde a primeira chamada até cessar o chamamento, com a postura ou morte das mesmas. Através dessa metodologia foram obtidas informações sobre o horário, o tempo na escotofase até iniciar a exposição da glândula e a duração do chamamento em minutos. Avaliou-se o número de fêmeas que procederam ao chamamento, o início do chamamento, o número de vezes que cada fêmea chamou, a duração, o tempo total gasto com chamamentos e até que idade as fêmeas virgens mantiveram o chamamento na escotofase. Calculou-se o percentual de fêmeas que chamaram até 24h de vida, de 24 à 48h e de 48 à 72h após a emergência.

Extração da glândula de feromônio sexual das fêmeas

As glândulas de feromônio sexual foram extraídas de fêmeas virgens de 1 à 3 dias de idade e entre a 6^a e a 7^a h do início da escotofase. Para a extração, realizou-se uma leve pressão na parte terminal do abdômen das fêmeas, externando os últimos segmentos abdominais, onde se localiza a glândula de feromônio sexual. As glândulas foram retiradas com o auxílio de uma pinça e colocadas em frascos de vidro de 2mL, contendo 0,4mL de hexano, onde permaneceram durante 30 minutos. O extrato foi transferido para um frasco limpo, concentrado sob fluxo de argônio a 1 FE, e estocado a -20° C, para posterior análise química.

Análises em cromatografia gasosa acoplada a um detector eletroantenográfico (GC-EAD)

A análise foi realizada em um GC Varian Saturn 2000 equipado com uma coluna VA-5 (30m x 0,25mm; 0,25µm) com modo de injeção em “splitless”. O sistema foi programado a 70°C (1min), com rampa de aquecimento de 7°C/min até 250°C e, mantido a essa temperatura por cinco minutos. Dos adultos machos de *L. obliqua* que emergiram em laboratório foram retiradas as antenas logo após a sua emergência. Utilizou-se uma pinça para retirar a antena da cabeça do inseto sem danificar o escapo. A resposta das antenas dos machos de *L. obliqua* foi registrada em um sistema GC-EAD como descrito por Leal *et al.* (1992; 1994), adaptando-se a estação de acrílico do sistema do EAD para que ficasse ajustada de acordo com o tamanho da antena do inseto.

Testes em olfatômetros

Para verificar a atividade biológica dos extratos das glândulas de feromônio sexual de fêmeas virgens, conduziu-se dois tipos de bioensaios com os machos da espécie. Tanto nos testes com

olfatômetro em “Y”, quanto nos testes de arena, observou-se o comportamento de resposta dos machos ao feromônio natural das fêmeas.

No primeiro teste, utilizou-se um olfatômetro de vidro do tipo “Y”, com braços de (10cm x 40 cm). O bioensaio foi realizado durante a escotofase, a $25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$ e $65,0 \pm 15\%$ de UR. O olfatômetro foi operado horizontalmente. A corrente de ar no olfatômetro foi ajustada para 1 l/min e produzida por sucção a vácuo. Na extremidade de um dos braços foi colocado um pedaço de papel filtro de 2 cm^2 , impregnado com 5 μL do extrato da glândula das fêmeas, e no outro braço foi colocado apenas o papel filtro com o solvente como controle. Foi utilizado um macho virgem em cada repetição. A quantificação dos tratamentos foi feita a medida que os insetos se direcionavam para uma das extremidades dos braços do olfatômetro, tocavam o papel de filtro e permaneciam sobre o mesmo. Foram feitas 12 repetições e os resultados de atração foram transformados em porcentagem.

O segundo teste foi realizado em arena (30 x 20 x 15cm de altura), sob as mesmas condições acima mencionadas. Colocou-se na região central da arena um pedaço de papel filtro de 2 cm^2 , impregnado com 5 μL do extrato das glândulas das fêmeas, e liberou-se cinco machos virgens em 16 repetições. Registrou-se a atividade dos machos durante 10min, observando-se o comportamento deles frente ao extrato das glândulas das fêmeas no interior da arena e, somente na presença do solvente, no papel filtro como controle.

Resultados

Durante o chamamento, as fêmeas virgens de *L. obliqua* se posicionaram verticalmente na gaiola, com as asas totalmente distendidas e expondo a parte terminal do abdômen para baixo,

externando os últimos segmentos abdominais onde estão localizados o ovipositor e a glândula de feromônio (Figs.1A e B). A glândula de feromônio sexual localiza-se na membrana intersegmental, entre o 8º e o 9º segmentos abdominais e na posição latero-ventral. Diariamente, durante o comportamento de chamamento, no início da escotofase, as fêmeas se movimentavam dentro das gaiolas, permanecendo ativas por aproximadamente 30min, quando então assumiam a posição de chamamento e permaneciam imóveis, nessa posição, até o final do chamamento diário.

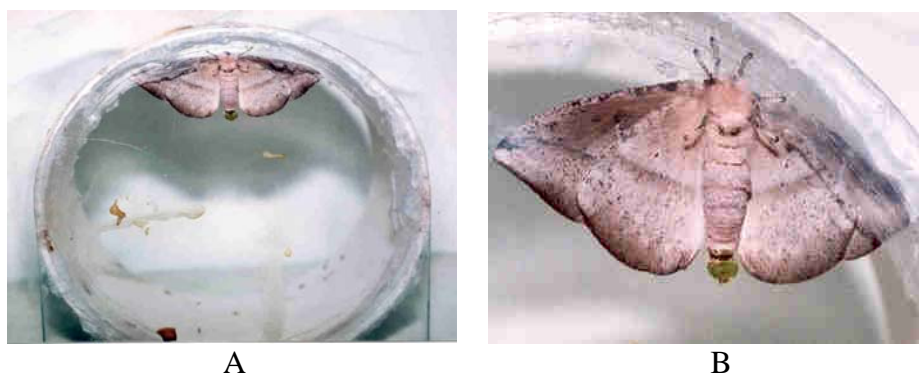


Figura 1. Fêmeas de *Lonomia obliqua* na gaiola (A), em posição de chamamento (B), expondo a glândula de feromônio sexual.

As fêmeas virgens de *L. obliqua* apresentaram comportamento de chamamento somente durante a escotofase, cessando por completo a exposição da glândula de feromônio ao iniciar a fotofase. Obteve-se que, durante a escotofase, 87,5% do total de fêmeas acompanhadas em laboratório procederam ao chamamento, enquanto que 12,5% não chamaram em momento algum (Fig. 2).

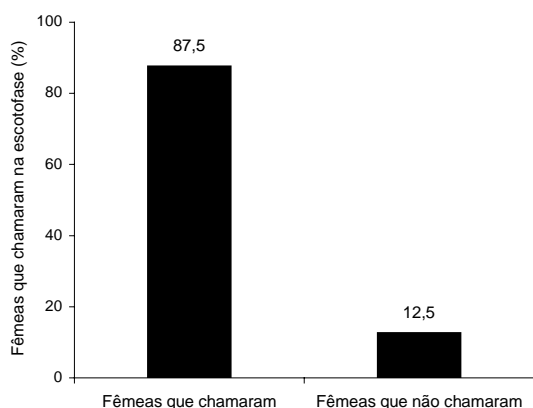


Figura 2. Percentual de fêmeas de *Lonomia obliqua* chamando na escotofase.

A média de idade das fêmeas que fizeram o primeiro chamamento na escotofase foi de 838min (± 756 min) após a emergência, porém, houve um considerável grau de variação individual. Observou-se que a idade mínima em que uma fêmea chamou foi de 1h10min, embora algumas fêmeas fizeram o primeiro chamamento somente 51h30min após a emergência.

Observou-se que 70,6% das fêmeas chamaram pela primeira vez até 24h de idade, 27,8 % chamaram de 24 a 48h e, apenas 1,59% das fêmeas virgens, tiveram seu primeiro chamamento de 48 a 72h de idade (Fig. 3). Obteve-se um Tempo Médio Inicial de Chamamento das Fêmeas (TMICF) de 311 minutos de escotofase para todas as fêmeas que chamaram pela primeira vez.

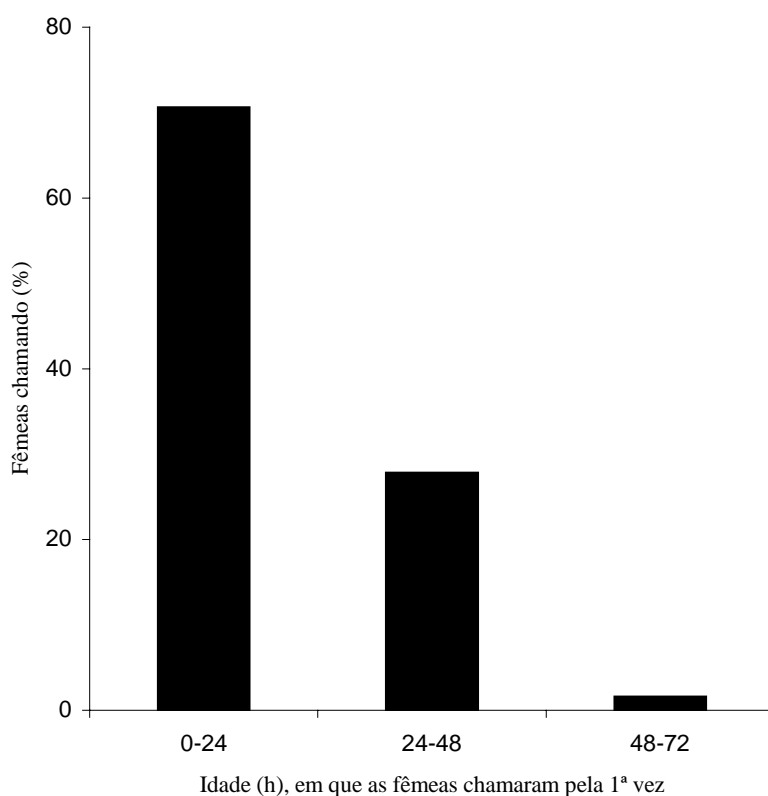


Figura 3. Idade, após a emergência, em que as fêmeas virgens de *Lonomia. obliqua* chamaram pela primeira vez durante a escotofase.

Como nem todas as fêmeas iniciaram o chamamento na mesma idade cronológica, decidiu-se fazer comparações individuais pela idade de chamamento. Utilizou-se então a idade fisiológica, sendo que o comportamento de chamamento das fêmeas foi comparado independentemente das diferenças de idade cronológica. Essas comparações foram feitas em subseqüentes dias de chamamento.

Das 65 fêmeas acompanhadas individualmente, do primeiro ao sexto dia, obteve-se que 87,5% das fêmeas chamaram no primeiro dia, e 12,5% não chamaram, enquanto que no sexto dia 26,2% das fêmeas ainda estavam chamando e 73,8% cessaram o chamamento (Fig. 4).

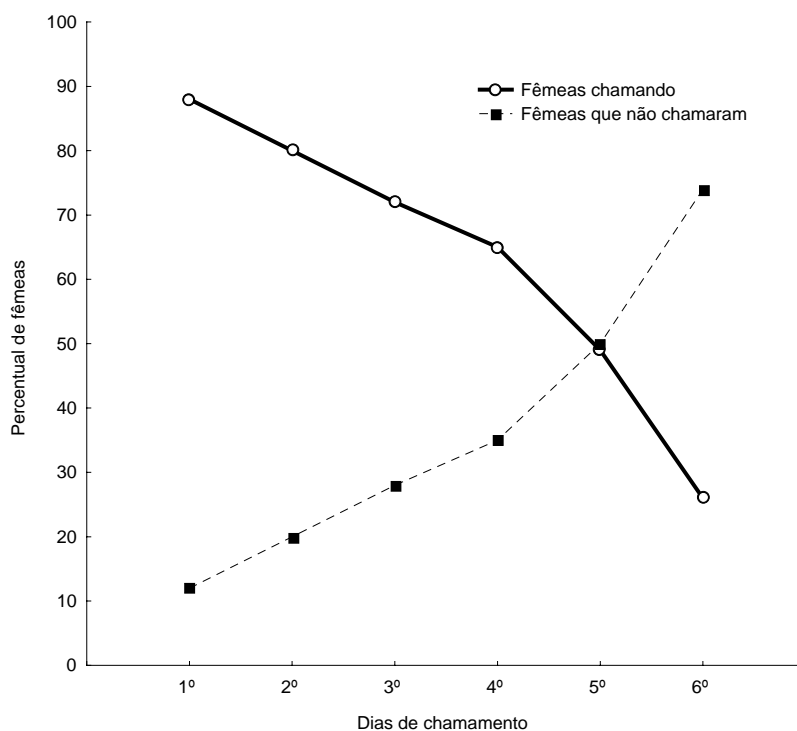


Figura 4. Percentual de chamamento de fêmeas virgens de *Lonomia obliqua*, do 1º ao 6º dia na escotofase.

Em relação ao número de chamadas por fêmea em cada dia de chamamento, obteve-se que a grande maioria delas, ou seja, 92,3%, chamaram uma só vez ao dia; 7,2% chamaram duas vezes e apenas uma fêmea chamou três vezes no mesmo dia, correspondendo a 0,3% (Fig. 5).

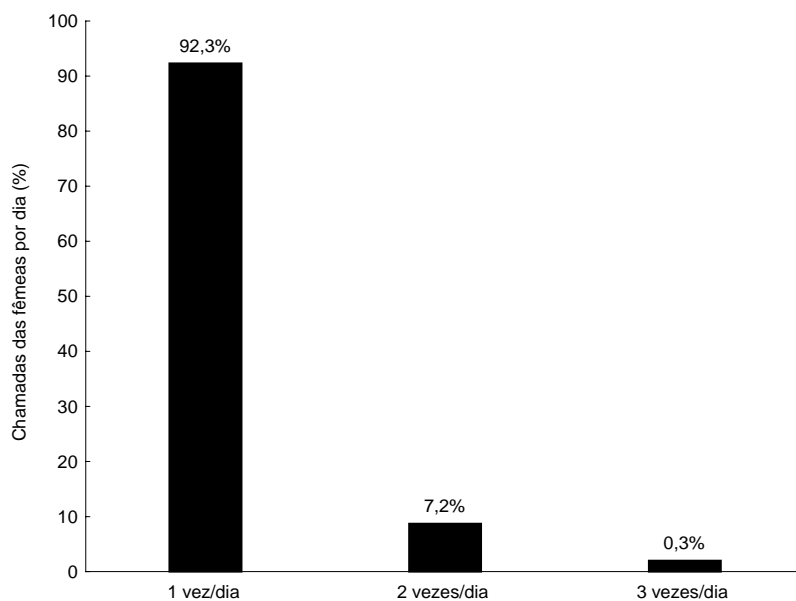


Figura 5. Número médio de chamadas por fêmea virgem de *Lonomia obliqua*, em cada dia de chamamento.

Examinando-se o padrão de chamamento individual das fêmeas, ficam claras as variações que ocorrem com o aumento da idade de chamamento (Fig. 6). Observou-se que o maior percentual de fêmeas chamando ocorreu no terceiro dia após a emergência, entre a 6^a e a 7^a h do início da escotofase, com 40% de chamamento. Até o 3º dia após a emergência, a atividade de chamamento de todas as fêmeas aumentou e concentrou-se a partir da segunda metade da escotofase. O chamamento diminuiu a partir do 4º dia de vida e distribuiu-se mais uniformemente durante o início da escotofase.

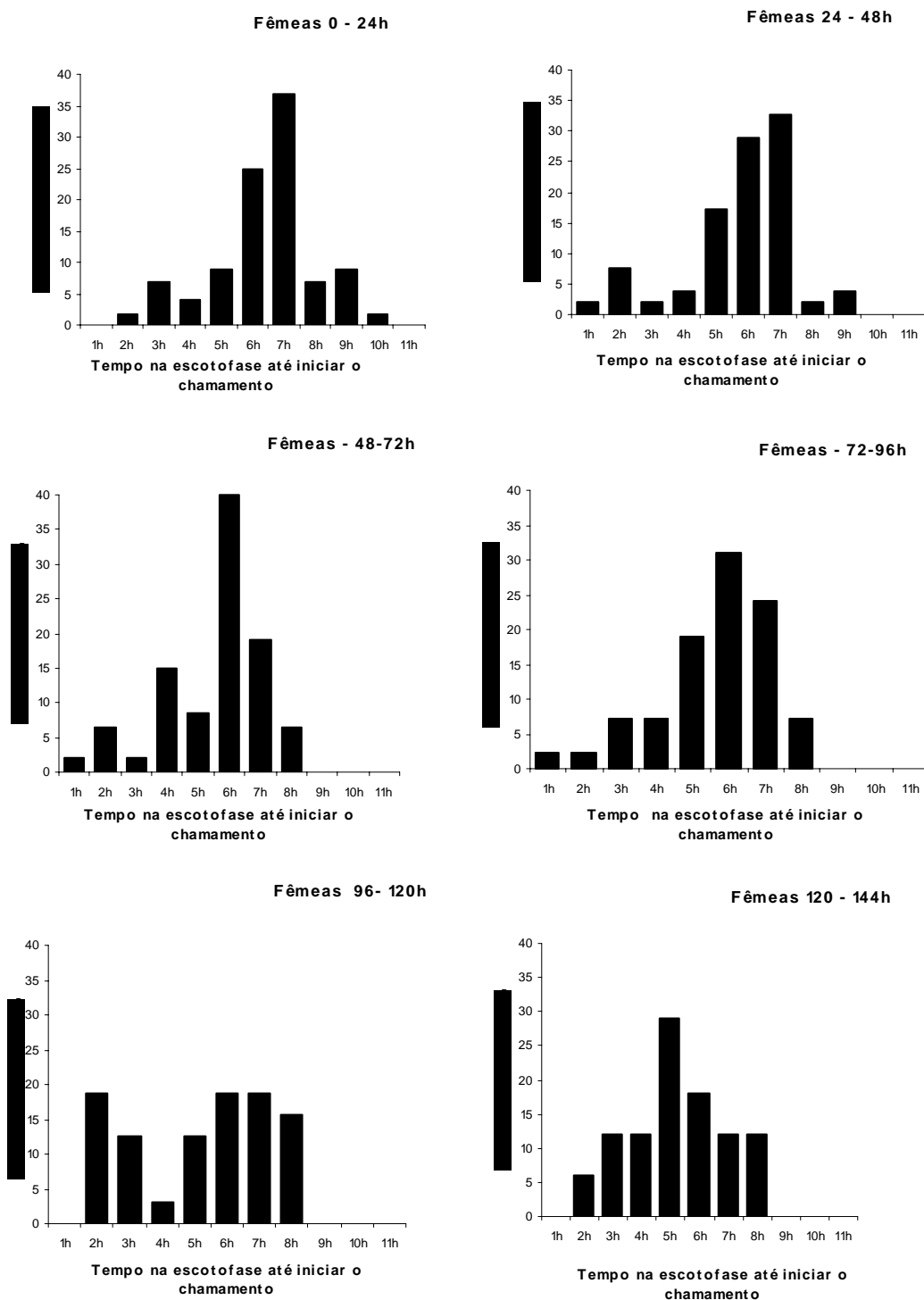


Figura 6. Média do início do chamamento das fêmeas virgens de *Lonomia obliqua* do 1º ao 6º dia após a emergência

Em média, as fêmeas iniciaram o chamamento aos 360 min de escotofase, no primeiro dia, e anteciparam o início do chamamento à medida que foram envelhecendo, passando a iniciar o chamamento aos 290 min com seis dias de idade (Fig. 7).

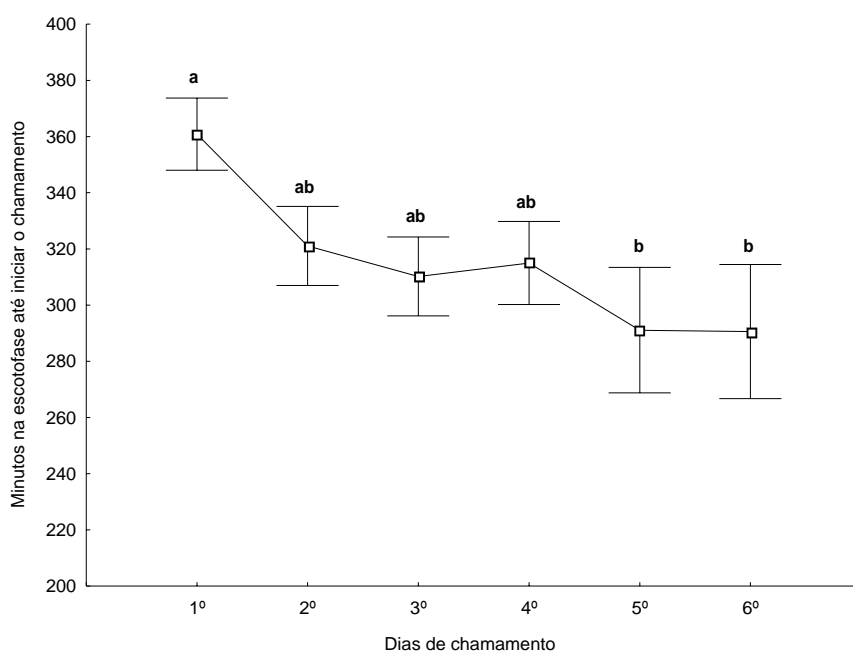


Figura 7. Tempo médio (min), na escotofase, em que as fêmeas de *Lonomia obliqua* iniciaram o chamamento em cada dia de exposição. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A média do Tempo Total de Chamamento das Fêmeas (TTCF) foi de 212min (± 99 min) (Fig. 8). No primeiro dia de chamamento a duração média ficou em 191min (± 97 min), mas a medida que envelheciam passavam mais tempo chamando, sendo que as fêmeas de seis dias de idade chamaram, em média, por um período de 262min (± 127 min).

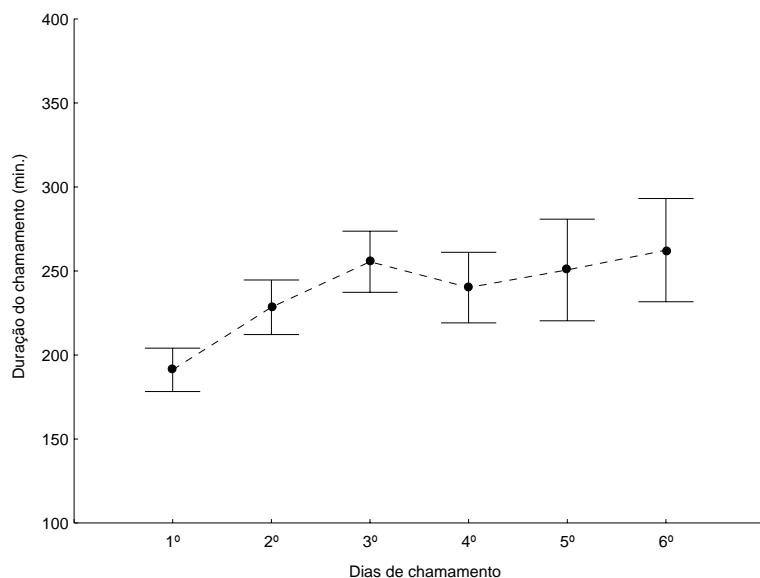


Figura 8. Duração média do chamamento (min), de fêmeas virgens de *Lonomia obliqua*, do 1º ao 6º dia, durante a escotofase.

A glândula de feromônio sexual de *L. obliqua*, foi removida das fêmeas virgens, de um a três dias de idade, entre a 6ª e a 7ª hora do início da escotofase (pico máximo de chamamento). Os extratos das glândulas de feromônio sexual foram analisados por cromatografia gasosa, acoplada a um detector eletroantenográfico (GC-EAD). Constatou-se que o feromônio da espécie é multicomponente pois as antenas dos machos responderam positivamente a pelo menos dois componentes presentes nos extratos, sendo um deles considerado majoritário em função da intensidade da resposta antenal (Fig. 9).

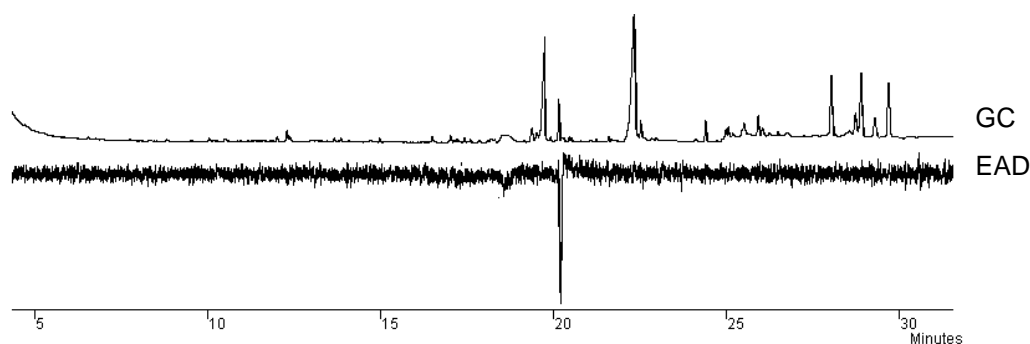


Figura 9. Análise em GC-EAD do extrato da glândula de feromônio sexual de fêmeas de *Lonomia obliqua*.

Embora as estruturas químicas dos componentes ativos estejam em processo de identificação, as análises iniciais de cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massa (GC-MS), indicaram que as moléculas seguem o padrão estrutural da maioria dos componentes feromonais dos lepidópteros (Witzgall *et al.*, 2004).

Os testes em olfatômetro confirmaram a atividade biológica dos extratos das glândulas e, conseqüentemente, a existência de feromônio sexual na espécie. Foi observado que 40% dos machos foram atraídos para o papel filtro contendo o extrato da glândula das fêmeas, enquanto que somente 6,3% dos machos foram atraídos para o controle (Fig. 10). Os demais, 53,7% não demonstraram nenhuma atividade biológica.

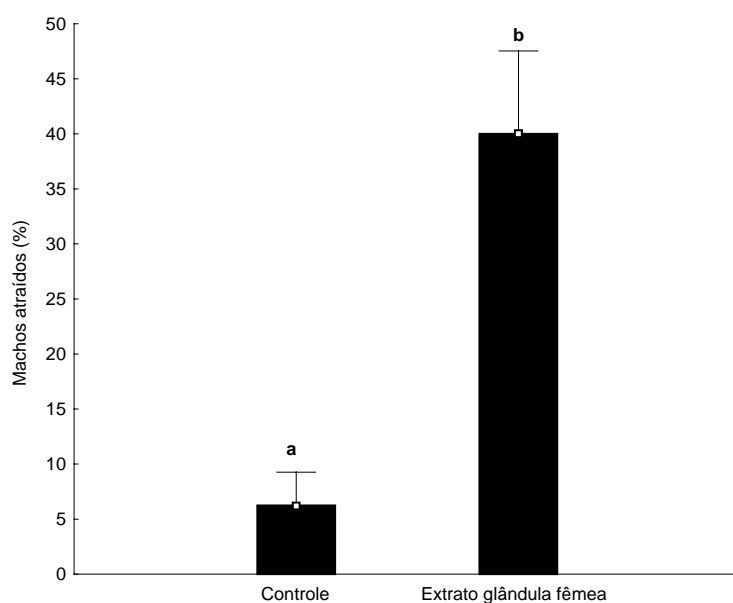


Figura 10. Percentual de machos de *Lonomia obliqua* que responderam aos extratos das glândulas de fêmeas virgens, em olfatômetro em Y. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste “t”, ao nível de 5% de probabilidade.

Os testes em arena possibilitaram a obtenção de informações importantes a respeito do comportamento dos machos, quando expostos aos extratos da glândula das fêmeas. Nos primeiros

minutos os machos se movimentaram para todos os lados, com vôos rápidos. Em seguida, pousaram rapidamente na fonte do odor e se deslocaram para os cantos da arena onde permaneceram tremendo as asas. Com as antenas bem distendidas, logo seguiam em movimentos circulares em volta do papel filtro, que continha o extrato das fêmeas. No final do bioensaio, os machos pararam junto à fonte de odor, no papel filtro, e lá permaneceram agrupados, tentando acasalar-se. Em algumas observações, percebeu-se que os machos, em grupo, carregavam o papel filtro, impregnado pelo odor das fêmeas, para um dos cantos da arena e nele permaneciam agrupados, tentando o acasalamento.

Discussão

Os resultados sobre o chamamento das fêmeas de *L. obliqua*, restrito ao período de escotofase, confirmam as observações realizadas por Fornés & Hernández (2000), que relatam que os adultos de *Hylesia metabus* (Lep.: Saturniidae), em laboratório, estão sempre mais ativos em horas crepuscular-noturnas, não tendo atividade na fotofase. O mesmo foi registrado por Raina *et al.* (1986) para *Heliothis zea* (Lep.: Noctuidae). A expressão do comportamento de chamamento contínuo, onde as fêmeas de *L. obliqua* se posicionaram com as asas elevadas e bem abertas e com o abdômen distendido, durante todo o período de chamamento, também foi observada em *Manduca sexta* (Lep.: Sphingidae) (Itagaki & Conner, 1988); *Tuta absoluta* (Lep.: Gelechiidae) (Hickel & Vilela 1991; Hickel *et al.*, 1992) e *H. metabus* (Fornés & Hernández, 2000).

No presente estudo, a idade da primeira chamada variou significativamente entre as fêmeas. Essa variação individual, do início do chamamento das fêmeas de *L. obliqua* logo após a emergência, foi também registrada para outros lepidópteros (Lawrence & Bartell, 1972; Hirano & Muramoto, 1976;

Swier *et al.*, 1977; Turgeon & McNeil, 1982 e West *et al.*, 1984). As fêmeas virgens de *Heliothis armigera* e *P. unipuncta* (Noctuidae), iniciaram o chamamento no 2º e 3º dia após a emergência, sendo que nem todas as fêmeas iniciaram na mesma idade cronológica, por isso a opção pela idade fisiológica para comparar o comportamento de chamamento. O período em que essas espécies iniciaram o chamamento, na escotofase, mudou significativamente do primeiro para o 4º e 5º dia. Essa mudança no início do chamamento foi acompanhada pela duração das chamadas, que aumentou no 2º e 3º dia, com diferenças significativas em relação ao primeiro dia, sendo que no 5º dia houve uma diminuição na média de duração da chamada das fêmeas de *H. armigera* (Kou & Chow, 1987; Turgeon & McNeil, 1982). Esses resultados repetiram-se no estudo de comportamento das fêmeas de *L. obliqua*.

As fêmeas mais novas de *L. obliqua* demoraram mais tempo para iniciar o chamamento, sendo que esses foram bem mais curtos do que os observados nas fêmeas mais velhas. As fêmeas mais velhas anteciparam o início do chamamento na escotofase e prolongaram a sua duração. Esses resultados também foram verificados em *A. ipsilon* (Swier *et al.*, 1977). Provavelmente, a antecipação do início do chamamento de fêmeas mais velhas possa promover um aumento na probabilidade de acasalamento, por aumentar a chance dessas fêmeas atraírem os machos antes do que as fêmeas mais novas (Swier *et al.*, 1977). O chamamento de fêmeas de *H. lineata* iniciou-se três a quatro horas antes do amanhecer, na mesma noite da emergência (Janzen, 1984). Essa variação na idade de chamamento das fêmeas estaria relacionada à quantidade de óvulos presentes nos seus ovários (Turgeon & McNeil, 1982; Swier *et al.*, 1976). Segundo estes autores, quando houve o primeiro chamamento já existiam óvulos no ovário e, nos dias de maior chamamento, havia maior número de óvulos maduros, o que indicaria o melhor período para o acasalamento.

O padrão de chamamento individual das fêmeas de *L. obliqua* variou consideravelmente no número e na duração das chamadas. Os resultados obtidos foram semelhantes aos encontrados para

H. zea (Raina *et al.*, 1986); *Phthorimaea operculella* (Gelechiidae), (Toth, 1985); *Keiferia lycopersicella* (Gelechiidae), (McLaughlin *et al.*, 1979) e em *A. ipsilon*, (Gemeno & Haynes, 2000; 2001). Os autores relataram que a quantidade de feromônio obtida nos extratos das glândulas dessas fêmeas e a atividade de chamamento foi mais intensa entre a 4^a e a 5^a h, da escotofase, sendo que a partir desse horário diminuiu o chamamento das fêmeas. Em *P. unipuncta*, a liberação máxima de feromônio pelas fêmeas ocorreu durante a 2^a e a 3^a escotofase, ou seja, no 2^o e 3^o dia de vida, coincidindo com o máximo de feromônio contido nas glândulas, e decresceu significativamente a partir da 4^a escotofase (Turgeon & McNeil, 1982). O mesmo foi relatado por Babilis & Mazomenos (1992), com *Sesamia nonagrioides* (Noctuidae), que observaram o máximo de chamamento durante os primeiros três dias seguintes à emergência e na 6^a h da escotofase, no pico de maior quantidade de feromônio sexual na glândula das fêmeas, registrando também a ocorrência de acasalamentos até a 2^a escotofase. Os autores concluíram que a biossíntese do feromônio da espécie ocorre durante a escotofase, concentrando-se entre a 5^a e a 6^a h, coincidindo com o máximo da atividade de chamamento das fêmeas. Em *Anagasta kuhniella* (Pyralidae) e *Choristoneura fumiferana* (Tortricidae), a atratividade máxima das fêmeas e a maior produção de feromônio ocorreu na 3^a escotofase (Traynier, 1970; Sanders & Lucuik, 1972). Nas fêmeas de *H. zea*, a maior quantidade de feromônio presente na glândula ocorreu na 2^a e 3^a noite, evidenciando assim o motivo pelo qual a maioria das fêmeas da espécie acasalou durante esse período (Callahan, 1958). Raina *et al.* (1986) acreditam haver um sincronismo entre a produção e a liberação de feromônio da superfície da glândula, quando esta é evertida durante o chamamento.

A extração da glândula de feromônio das fêmeas virgens de *L. obliqua*, seguiu o padrão adotado para as demais espécies da família Saturniidae nas quais já existe a identificação da estrutura química dos componentes feromonais. Em *Coloradia velda* (Saturniidae), foi extraído o ovipositor, junto com a glândula de feromônio, dos últimos segmentos abdominais de fêmeas virgens, de zero a

dois dias de idade (McElfresh & Millar, 1999b). Em estudos sobre os componentes do feromônio sexual de *Hemileuca maia* (Saturniidae), as glândulas das fêmeas virgens foram extraídas, de um a dois dias de idade, durante o chamamento (McElfresh *et al.*, 2001b). Nos estudos do comportamento de fêmeas virgens de *Antheraea pernyi* e *Samia cynthia ricini*, as glândulas foram extraídas entre três e cinco dias de idade e no pico de chamamento (Bestmann *et al.*, 1987; 1989). Na mesma idade, foram extraídas as glândulas das fêmeas virgens de *Hemileuca eglanterina* e de três espécies do gênero *Saturnia*: *Saturnia walterorum*, *Saturnia mendocino* e *Saturnia albofasciata* (McElfresh & Millar, 1999a; McElfresh *et al.*, 2001a).

Algumas espécies de Saturniidae já tiveram seus feromônios sexuais identificados. Em *Antheraea polyphemus*, as análises de GC-EAD mostraram uma intensa resposta antenal de machos para o composto *E6,Z11-16Ac*, sendo esse o componente majoritário do feromônio sexual da espécie (Kochansky *et al.*, 1975). Posteriormente, os autores identificaram o aldeído correspondente *E6,Z11-16Ald*, como o componente minoritário (Kochansky *et al.*, 1977). Na espécie *A. pernyi*, a antena do macho apresentou resposta positiva para dois componentes feromonais, o *E6,Z11-16Ald* (majoritário) e o *E6,Z11-16Ac* (minoritário) (Bestmann *et al.*, 1987). Os estudos preliminares com *S. cynthia ricini* indicaram como componentes do feromônio um aldeído conjugado diinsaturado e um componente minoritário, identificado como acetato de hexadecatrienila (Bestmann *et al.*, 1989). A antena dos machos da espécie respondeu significativamente ao aldeído, mas não mostrou resposta ao acetato. Porém, testes comportamentais mostraram que a mistura dos dois componentes promoveu uma resposta de batimento das asas dos machos, similar àquela provocada pelo extrato de glândulas de fêmeas virgens (Bestmann *et al.*, 1989).

No feromônio sexual das fêmeas das espécies *Hemileuca eglanterina*, *H. nuttalli*, *H. maia* e *C. velda* também foram identificados componentes como acetato, aldeído e álcool (McElfresh & Millar 1999a; 1999b; 1999c; McElfresh *et al.*, 2001b). Nas fêmeas de três espécies do gênero

Saturnia, a identificação mostrou a ocorrência de um único composto feromonal, o *E4,Z9-14Ald*, (McElfresh *et al.*, 2001a).

Para *L. obliqua*, as estruturas químicas dos dois componentes EAD-ativos são, provavelmente, análogas àsquelas descritas para os demais Saturniidae, de acordo com as análises preliminares de GC-MS.

As respostas obtidas em olfatômetros, sobre a atratividade dos machos de *L. obliqua* frente ao extrato das glândulas das fêmeas, foram semelhantes àsquelas encontradas nos bioensaios com a espécie *Phyllocnistis citrella* (Gracillariidae) (Parra, 2001). Nesse estudo, a intensidade da resposta dos machos ao extrato da glândula das fêmeas, bem como a sua permanência sobre a fonte de odor, comprovou a existência de um feromônio sexual emitido pelas fêmeas.

Quando se trabalha com a identificação do feromônio sexual de uma espécie de Lepidoptera, a metodologia utilizada segue uma seqüência padrão. Inicia-se com a extração de glândulas feromonais de fêmeas virgens, seguindo-se com a identificação dos compostos através de GC-MS e GC-EAD, testes comportamentais em laboratório e testes de campo. É importante salientar que, mesmo que um composto feromonal promova resposta antenal nos machos, este pode não ter eficiência alguma quando utilizado em testes comportamentais, ou de campo. O oposto também pode ocorrer, sendo que, às vezes, um composto minoritário presente no extrato não é capaz de promover uma resposta antenal significativa do macho. Porém, esse composto pode ser imprescindível na atratividade de machos em testes comportamentais ou de campo.

Para *L. obliqua*, o presente estudo se concentrou fundamentalmente na análise do comportamento de chamamento das fêmeas, fornecendo informações de alta relevância para o processo de identificação do feromônio sexual. Os primeiros resultados comportamentais mostraram que o feromônio liberado pela fêmea, possui alto poder de atração sobre os machos da

espécie, conduzindo-os ao acasalamento. Estudos adicionais ainda são necessários para que se possa desenvolver uma mistura feromonal que seja eficiente no monitoramento da espécie no campo.

Referências bibliográficas

- Babilis, N.A., Mazomenos, B.E. (1992) Pheromone production in *Sesamia nonagrioides*: diel periodicity of age and mating. *Journal of Insect Physiology*, **38**, 561-564.
- Bestmann, H.J., Wu Cai-Hong, B. Döhla, & Li-Kedong. (1987) Functional Group Recognition Molecules by Sensory Cells of *Antheraea polyphemus* and *Antheraea pernyi* (Lepidoptera: Saturniidae). *Zeitschrift fur Naturforschug*, **42**, 435-441.
- Bestmann, H.J., Attygalle, A.B., Schwarz, J., Wolfgang G., Vostrowisky, O., Tomida, I. (1989) Pheromones Identification and Synthesis of Female Sex Pheromone of Eri-Silkworm, *Samia cynthia ricini* (Lepidoptera:Saturniidae). *Tetrahedron Letters*, **22**, 2911-2914.
- Callahan, P.S. (1958) Behaviour of the imago of the corn earworm *Heliothis zea* (Boddie), with special reference to emergence and reproduction. *Annals of the Entomological Society of America*, **51**, 271-283.
- Duarte, A.C.; Caovilla, A.J. Lorini, I., Lorini, D., Mantovani, G., Sumida, J., Manfre, P.C. Silveira, R.C., Moura, S.P. (1990) Insuficiência renal aguda por acidentes com lagartas. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, **12**, 184-187.

- Fornés, L. & Hernández, J.V. (2000) Algunos aspectos de la biología de *Hylesia metabus* (Cramer 1775) (Lepidoptera: Saturniidae). *Boletín de Entomología Venezolana*, **15**, 127-145.
- Gemeno, C. & Haynes, K.F. (2000) Periodical and Age-Related variation in Chemical Communication System of Black Cutworm Moth *Agrothis ipsilon*. *Journal of Chemical Ecology*, **26**, 329-342.
- Gemeno, C. & Haynes, K.F. (2001) Impact of Photoperiod on the sexual Behavior of the Black Cutworm Moth (Lepidoptera: Noctuidae). *Physiological and Chemical Ecology*, **30**, 189-195.
- Henderson, H.E., Warren, O.P.H. Augustyn, B.V., Burger, D.F., Schneider, Boshoff, P.R., Spies, H.S.C. Geertsema, H. (1973) Isolation and Structure of the Sex-Pheromone of the Moth, *Nudaurelia cytherea cytherea*. *Journal of Insect Physiology*, **19**, 1257-1264.
- Hickel, E.R., Vilela, E.F. (1991) Comportamento de Chamamento e Aspectos do Comportamento de Acasalamento de *Scrobipalpuloides absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, **20**, 173-182.
- Hickel, E.R., Vilela, E.F., de Lima, J.O.G., Della Lúcia, T.M.C. (1992) Calling behavior of the tomato leafminer *Scrobipalpuloides absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, **36**, 277-280.

- Hirano, C. & Muramoto, H. (1976) Effect of age on mating activity of the potato leaf folder, *Brachmia macroscopa* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Applied Entomology and Zoology*, **11**, 154-159.
- Itagaki, H., Conner, W.E. (1988) Calling behaviour of *Manduca sexta* (L.) (Lepidoptera: Sphingidae) with notes on the morphology of the female sex pheromone gland. *Annals of the Entomological Society of America*, **81**, 798-807.
- Janzen, D.H. (1984) Natural history of *Hylesia lineata* (Saturniidae: Hemileucinae) in Santa Rosa National Park, Costa Rica. *Journal of Kansas Entomological Society*, **57**, 490-514.
- Kochansky, J.P., J. Tette, E.F. Taschenberg, R.T. Cardé, K.E. Kaissling & W.L. Roelofs. (1975) Sex Pheromone of the *Antheraea polyphemus*. *Journal of Insect Physiology*, **21**, 1977-1983.
- Kochansky, J.P., Cardé, R.T., Taschenberg, E.F. & Roelofs, W.L. (1977) Rhythms of male *Antheraea polyphemus* attraction and female attractiveness, and an improved pheromone synthesis. *Journal of Chemical Ecology*, **4**, 419-427.
- Kou, R. & Chow, Y.S. (1987) Calling behavior of the cotton bollworm *Heliothis armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals of the Entomological Society of America*, **80**, 490-493.
- Lawrence, L.A. & Bartell, R.J. (1972) The effect of age on calling behaviour of virgin females of *Epiphyas postvittana* (Lepidoptera) and on their pheromone content and ovarian development. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **15**, 455-464.

- Leal, W.S., F. Mochizuki, S. Wakamura & T. Yasuda. (1992) Eletroantennografic detection of *Anomala cuprea* sex pheromone. *Applied Entomology and Zoology*, **27**, 289-291.
- Leal, W.S., F. Kawamura & M. Ono. (1994) The scarab beetle *Anomala albopilosa sakishimana* utilizes the same sex pheromone blend as a closely related and geographically isolated species, *Anomala cuprea*. *Journal of Chemical Ecology*, **20**, 1667-1676.
- Lemaire, C. (2002) *The Saturniidae of America (Les Saturniidae Americains) Hemileucinae Part A*, pp. 688. Goecke & Evers, Keltern.
- Lorini, L.M. (1999) *A taturana, aspectos biológicos e morfológicos da Lonomia obliqua*. pp.67. Ediupf, Passo Fundo.
- Lorini, L.M. & Corseuil, É. (2001) Aspectos Morfológicos de *Lonomia obliqua* Walker, 1855 (Lepidoptera: Saturniidae) em laboratório. *Neotropical Entomology*, **30**, 373-378.
- Lorini, L.M., Rebelato, G.S., Bonatti, J. (2004) Reproductive Parameters of *Lonomia obliqua* Walker, 1855, (Lepidoptera: Saturniidae) in Laboratory. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **47**, 575-577.
- McElfresh, J.S. & Millar, J.G. (1999a) Sex Pheromone of the common sheep moth *Hemileuca eglanterina*, from the San Gabriel Mountains of California. *Journal of Chemical Ecology*, **25**, 687-709.

- McElfresh, J.S. & Millar, J.G. (1999b) Sex Attractant Pheromone of Saturniid Moth *Coloradia velda*. *Journal of Chemical Ecology*, **25**, 1067-1078.
- McElfresh, J.S. & Millar, J.G. (1999c) Sex Pheromone of Nuttall's Sheep moth *Hemileuca nuttalli* from The Eastern Sierra Nevada Mountains of California. *Journal of Chemical Ecology*, **25**, 711-726.
- McElfresh, J.S., Hammond, A.M., Millar, J.G. (2001a) Sex Pheromone components of the buck moth *Hemileuca maia* *Journal of Chemical Ecology*, **27**, 1409-1422.
- McElfresh, J.S., Millar, J.G., Rubinoff, D. (2001b) (E4,Z9)- Tetradecadienal, A sex pheromone for three north American moth species in the genus *Saturnia*. *Journal of Chemical Ecology*, **27**, 791-806.
- McLaughlin, J.R., Antonio, A.Q., Poe, S.L., Minnick, D.R. (1979) Sex pheromone biology of the adult tomato pinworm, *Keiferia lycopersicella* (Walsingham). *Florida Entomologist*, **62**, 35-41.
- Parra, A.L.G.C. (2001) Comportamento Reprodutivo de *Phyllocnistes citrella* Station, 1885 (Lep.: Gracillariidae). *Dissertação de mestrado*. Piracicaba, Universidade de São Paulo, 79p.
- Raina, A. K. Klun, J.A. e Astadelbacher, E.A. (1986) Dial periodicity and effect of calling age and mating on female sex pheromone titer in *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals of the Entomological Society of America*, **79**, 128-131.

- Sanders, C.J. & Lucuik, G.S. (1972) Factors of feeding calling by female eastern spruce budworm *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera:Tortricidae). *Canadian Entomologist*, **104**, 1751-1762.
- Swier, S.R., Rings, R.W. & Musick, G.J. (1976) Reproductive behaviour of the black cutworm, *Agrotis ipsilon*. *Annals of the Entomological Society of America*, **69**, 546-550.
- Swier, S.R., Rings, R.W. & Musick, G.J. (1977) Age-related calling behaviour of the black cutworm *Agrotis ipsilon*. *Annals of the Entomological Society of America*, **70**, 919-924.
- Toth, M. (1985) Temporal pattern of the female calling behaviour of the potato tuberworm moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera:Gelechiidae). *Zeitschrift für angewandte Entomologie*, **99**, 322-327.
- Traynier, R.M.M. (1970) Sexual behaviour of the Mediterranean flour moth, *Anagasta kuhniella*: some influence of age, photoperiod, and light intensity. *Canadian Entomologist*, **102**, 534-540.
- Turgeon, J. & McNeil, J. (1982) Calling behaviour of the armyworm *Pseudaletia unipuncta*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **31**, 402-408.
- West, R.J., Teal, P.E.A., Laing, J.E., Grant, G.M. (1984) Calling behaviour of the potato stem borer, *Hydraecia micacea* Esper (Lepidoptera: Noctuidae) in the laboratory and the field. *Environmental Entomology*, **13**, 1399-1404.
- Witzgall, P., Lindblom, T., Bengtsson, M., Toth, M. (2004) The Pherolist. <http://www-pherolist.slu.se>.

CAPÍTULO IV:

**Incidência de parasitismo natural e identificação de parasitóides
em *Lonomia obliqua* Walker 1855 (Lepidoptera: Saturniidae)**

RESUMO - Este trabalho teve como objetivo identificar os endoparasitóides das larvas e pupas de *Lonomia. obliqua* Walker, 1855 (Lepidoptera: Saturniidae) e determinar os índices de parasitismo. Para isso, foram observadas 60 colônias de *L. obliqua* onde ocorreram parasitóides, calculando-se o parasitismo nas fases de larva e/ou pupa. Durante o período estudado foram identificados nove espécies de endoparasitóides de *L. obliqua*, sendo sete pertencente a Diptera (Tachinidae) e duas a Hymenoptera (Ichneumonidae). Os parasitóides de Diptera emergiram tanto de larvas quanto de pupas de *L. obliqua*, enquanto que os de Hymenoptera emergiram todos de larvas. As espécies *Moreiria wiedemanni* sp. nov. Toma & Guimarães, 2001, *Lespesia affinis* Townsend, 1927, *Patelloa* sp. e *Leschenaultia* sp., parasitaram o hospedeiro tanto na fase de larva como na de pupa. As espécies *Chetogena* sp., *Enicospilus mexicanus* e *Enicospilus* sp. parasitaram somente a fase de larva. E as espécies *Belvosia* sp. e *Winthemia* sp. emergiram apenas da fase de pupa do hospedeiro. A percentagem máxima de endoparasitóides de Tachinidae em *L. obliqua* foi de 10,71% em larvas e 13,56% em pupas. Entre esses, a maior incidência foi de *M. wiedemanni* com 53,13% da percentagem relativa dos endoparasitóides, e uma intensidade media de 3,74 parasitóides por pupa do hospedeiro. A percentagem de endoparasitóides pertencentes à família Ichneumonidae (Hymenoptera) variou de 1,37% a 55,56%, com média de 12,16% de parasitismo. A diversidade de espécies de parasitóides de *L. obliqua* encontradas neste trabalho, o índice significativo de parasitismo de algumas espécies, e a intensidade destes parasitóides, evidenciam a importância destes agentes biológicos no equilíbrio populacional de *L. obliqua* no habitat natural.

PALAVRAS-CHAVE: Taturana, Tachinidae, Ichneumonidae, endoparasitóides, *Moreiria wiedemanni*, *Lespesia affinis*, *Patelloa* sp., *Leschenaultia* sp., *Chetogena* sp., *Enicospilus mexicanus*, *Enicospilus* sp., *Belvosia* sp., *Winthemia* sp.

Natural parasitism and parasitoids identification of *Lonomia obliqua* Walker, 1855

(Lepidoptera: Saturniidae)

ABSTRACT – The aim of this study was to identify the endoparasitoids of larvae and pupae of *Lonomia obliqua* and to determine their parasitism. Totally 60 colonies of *L. obliqua* were observed and the percentage of parasitism in larvae and pupae was calculated. Nine species of *L. obliqua* endoparasitoids were identified, seven of them were Diptera (Tachinidae) and two Hymenoptera (Ichneumonidae). The Diptera parasitoids emerged both from *L. obliqua* larvae and pupae, while those of Hymenoptera emerged only from larvae. The species *Moreiria wiedemanni* sp. nov. Toma & Guimarães, 2001, *Lespesia affinis* Townsend, 1927, *Patelloa* sp. and *Leschenaultia* sp., parasited the host both in larvae and pupae stages. The species *Chetogena* sp., *Enicospilus mexicanus* (Cresson 1874) and *Enicospilus* sp. parasited only the larvae stage, while the species *Belvosia* sp. and *Winthemia* sp., emerged only the pupae stage. The maximum percentage of Tachinidae endoparasitoids in *L. obliqua* was 10.71% for larvae and 13.56% for pupae. Among these, the highest incidence was of *M. wiedemanni*, with 53.13% of endoparasitoids, and an average intensity of 3.74 parasitoids per host pupae. The percentage of Ichneumonidae endoparasitoids varied from 1.37% to 55.56%, with an average parasitism of 12.16%. The diversity of *L. obliqua* parasitoid species found in this work, the high level of parasitism by some species, and the intensity of these parasitoids highlight the importance of these biological agents on the *L. obliqua* population balance in its natural habitat.

KEY WORDS: Hemorrhagic caterpillar, Tachinidae, Ichneumonidae, endoparasitoids, *Moreiria wiedemanni*, *Lespesia affinis*, *Patelloa* sp., *Leschenaultia* sp., *Chetogena* sp., *Enicospilus mexicanus*, *Enicospilus* sp., *Belvosia* sp., *Winthemia* sp.

Introdução

Lonomia obliqua é um inseto que possui comportamento gregário na fase de larva, as quais são polífagas, alimentando-se preferencialmente de folhas de *Platanus acerifolia* (plátano), *Pyrus communis* (pereira) e *Prunus domestica* (ameixeira) (Lorini, 1999). Estudos iniciais indicavam que a distribuição geográfica do inseto parecia estar restrita a áreas rurais e regiões de maior quantidade de fragmentos florestais. Nos últimos anos, porém, a espécie aumentou sua área de ocorrência, tendo sido encontrado também em núcleos urbanos, em grande parte da região Sul do Brasil e, com ocorrência mais expressiva no norte do Estado do Rio Grande do Sul, mas também nos Estados de Santa Catarina, Paraná e São Paulo (Lorini, 1999).

Estudos sobre a biologia e morfologia da espécie têm esclarecido a respeito da duração das fases do seu ciclo de vida, bem como apontado os diferenciais que identificam a larva, a qual tem se caracterizado como um problema de saúde pública. Nas últimas décadas, o avanço do desmatamento, para a instalação de lavouras extensivas, provavelmente alterou o habitat natural da lagarta, reduzindo assim o número de seus inimigos naturais e favorecendo a sua aproximação com os seres humanos. Por isso, torna-se necessário estudar os agentes de controle biológico natural de *L. obliqua*, sua dispersão e abundância, possibilitando ações de controle dessa espécie para prevenir acidentes com a população.

Há pesquisas descrevendo parasitismo em espécies de noctuídeos como por exemplo com *Heliothis* spp. (Pair *et al.*, 1982), *Spodoptera frugiperda* (Cruz *et al.*, 1997; Silva *et al.*, 1997) em com *Spodoptera eridania* (Lopes *et al.*, 1997).

O comportamento de vários parasitóides pertencentes às famílias Tachinidae e Ichneumonidae, em Saturniidae, são referidos no trabalho de Peigler (1994). Entre esses, *Belvosia* spp. é um gênero que se caracteriza por um extraordinário método de parasitar as larvas, pois a fêmea do parasitóide localiza o hospedeiro específico na planta onde a larva se encontra e nele

deposita um ou mais ovos, justamente na frente onde a larva de Saturniidae está se alimentando, garantindo dessa forma a ingestão dos ovos pelo hospedeiro. *Leschenaultia* spp. são parasitóides grandes e seus ovos são depositados nas folhagens da planta hospedeira das larvas, já para o gênero *Lespesia* spp., cujos parasitóides tem ovos membranosos, a fêmea deposita-os no corpo do hospedeiro e os adultos emergem, geralmente, das pupas no outono ou na primavera. *Chetogena* spp. é parasitóide específico de Hemileucinae (Saturniidae), cujos ovos são liberados na cabeça ou internamente no tegumento das larvas hospedeiras. *Winthemia* spp. é relatado como um taquinídeo que parasita vários lepidópteros, entre esses, alguns da família Saturniidae. Esses geralmente liberam os ovos no tegumento interno dos hospedeiros e suas larvas, ao eclodirem perfuram a parede interna do hospedeiro e empupam fora dele. A distribuição de várias espécies desse gênero é registrada na África, Japão e América do Norte. Já na família Ichneumonidae, os parasitóides ocorrem em diferentes formas de parasitismo, alguns solitários e outros gregários (Peigler 1994).

Porém, o efeito do parasitismo de Tachinidae e de Ichneumonidae sobre larvas de Saturniidae foi pouco estudado, existindo apenas alguns registros de ocorrência, como de *Tapajohoughia* sp. (Tachinidae) em *Lonomia* sp. sobre *Eucalyptus* sp. (Lima 1949, citado por Silva *et al.*, 1967). *Hyalophora cecropia* e *Antheraea polyphemus* (Saturniidae), citadas como hospedeiras específicas do parasitóide *Lespesia* spp. (Sabrosky 1980). Nas espécies de saturnídeos *Hemileuca oliviae* e *Actias luna* foi observado o parasitismo de *Leschenaultia* sp. e *Chetogena* sp. (Tachinidae) e *Enicospilus* sp. (Ichneumonidae) (Fritz *et al.* 1986; Kellogg *et al.*, 2003). Coffelt & Schultz (1993), observaram adultos de *Lespesia anisotae* (Tachinidae), fazendo postura no corpo de larvas gregárias de 1º e 2º instar de *Anisota senatoria* (Saturniidae). D'Antonio (1983) encontrou na criação de *Periga (Lonomia) circumstans* os parasitóides *Patelloa similis* (Townsend) e *Leschenaultia leucophrys* (Wiedemann), representantes de Tachinidae. Sourakov & Mitchell

(2002), relataram a ocorrência de *Chetogena scutellaris* (Tachinidae), em várias famílias, entre essas, registrou a espécie em Saturniidae.

Os parasitóides pertencentes às espécies *Belvosia wiedemanni* Aldrich, 1928 e *Leschenaultia* sp. (Dip.; Tachinidae) e *Enicospilus* sp (Hym.: Ichneumonidae), foram observados por Lorini (1999), em larvas de *L. obliqua* coletadas no habitat natural no norte do Estado do Rio Grande do Sul. Já Moraes (2002), relatou a ocorrência de *Moreiria wiedemanni* (Dip.:Tachinidae, Goniinae, tribo Harrisini) e de *Lespesia affinis* (Towsend, 1927) (Dip.:Tachinidae, Goniinae, tribo Eryciini) ambas em *L. obliqua*, coletadas na região Sul do Brasil.

Tendo em vista o surgimento de vários parasitóides durante o manuseio e criação de *L. obliqua* em laboratório, para os estudos de evidência de feromônio e comportamento dessa espécie, este trabalho teve como objetivo identificar os endoparasitóides das larvas e pupas de *L. obliqua* e determinar os índices de parasitismo. Estes resultados são importantes para o entendimento da dinâmica populacional e restabelecimento do equilíbrio ambiental de *L. obliqua* no habitat natural.

Material e Métodos

Para a realização deste trabalho foram utilizadas colônias de larvas de *L. obliqua* coletadas em vários municípios da região norte do Estado do Rio Grande do Sul, no período de 2001 a 2004. As colônias foram mantidas no laboratório de Entomologia da Universidade de Passo Fundo, com temperatura de $25 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, $65\% \pm 15\%$ de UR e fotofase de 12h. Conforme protocolo de recebimento do laboratório, cada colônia foi registrada individualmente anotando-se a quantidade de larvas, instar larval, município de procedência e a planta hospedeira. As larvas foram colocadas em recipientes plásticos (18 cm x 25 cm) com a tampa ventilada e alimentadas diariamente com

folhas de plátano (*Platanus acerifolia*), anotando-se a transformação em pupas e a mortalidade das mesmas. As pupas foram individualizadas em recipientes plásticos (8cm x 7cm) revestidos com papel filtro e cobertos com tela de náilon sendo mantidas em câmara climatizada tipo BOD com temperatura de $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, de $70 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 13 horas.

Diariamente foi observado a ocorrência de parasitóides, tanto na fase de larva como na fase de pupa, e a emergência dos adultos de *L. obliqua*. Os endoparasitóides emergidos foram coletados e distendidos para serem encaminhados posteriormente para identificação, conforme o grupo taxonômico da especialidade. Os exemplares pertencentes à ordem Diptera foram encaminhados para o Dr. Ronaldo Toma do Museu de Zoologia da USP, São Paulo, SP, e os Hymenoptera para o Prof. Vinalto Graf do Centro de Estudos Faunísticos e Ambientais do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR

Para determinação dos índices de parasitismo natural de *L. obliqua*, foram escolhidas 33 colônias onde ocorreram parasitóides de Diptera, e 27 colônias onde ocorreram parasitóides de Hymenoptera, calculando-se a percentagem relativa de parasitismo, nas fases de larva e/ou pupa, para cada colônia de larvas.

Resultados e Discussão

Durante o período estudado foram identificados nove espécies de endoparasitóides de *L. obliqua*, sendo sete pertencentes à Tachinidae (Diptera) e dois à Ichneumonidae (Hymenoptera), emergidos de larvas e de pupas (Tabela 1).

Os parasitóides de Diptera emergiram tanto de larvas quanto de pupas de *L. obliqua*, enquanto que os de Hymenoptera emergiram todos de larvas. As espécies *Moreiria wiedemanni*, *Lespesia affinis*, *Patelloa* sp. e *Leschenaultia* sp., parasitaram o hospedeiro tanto na fase de larva

como na de pupa, enquanto que as espécies *Chetogena* sp., *Enicospilus mexicanus* e *Enicospilus* sp., parasitaram somente a fase de larva, e *Belvosia* sp. e *Winthemia* sp. emergiram apenas da fase de pupa de *L. obliqua* (Tabela 1). Embora não tenha sido observado o início do parasitismo, pois este aconteceu no campo, pode-se concluir que todas estas espécies de parasitóides tenham iniciado o parasitismo no hospedeiro na fase de larva, uma vez que as larvas já estavam parasitadas no momento da coleta. Esses ocorreram tanto como endoparasitóides solitários e também como gregários.

A espécie *M. wiedemanni* foi o parasitóide mais abundante dentre os dípteros e a espécie *Enicospilus mexicanus* predominou nos himenópteros (Tabela 1).

Os exemplares de parasitóides identificados foram depositados também na coleção do Museu Augusto Ruschi do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Passo Fundo, além de ficarem exemplares nos Museus das instituições onde foram identificados.

Tabela 1. Espécies de endoparasitóides emergidos de larvas e pupas de *Lonomia obliqua*, em laboratório, coletadas no período de 2001 a 2004, no Norte do estado do Rio Grande do Sul (Dip. n= 96; Hym. n= 47)

Ordem	Espécies	Fase do hospedeiro que emergiu	Número de parasitóides emergidos	% Relativa de cada espécie
Diptera (Tachinidae)	<i>Moreiria wiedemanni</i>	Larva / pupa	51,0	35,66
	<i>Belvosia</i> sp.	Pupa	16,0	11,19
	<i>Lespesia affinis</i>	Larva / pupa	16,0	11,19
	<i>Patelloa</i> sp.	Larva / pupa	8,0	5,59
	<i>Leschenaultia</i> sp.	Larva / pupa	3,0	2,10
	<i>Chetogena</i> sp.	Larva	1,0	0,70
	<i>Winthemia</i> sp.	Pupa	1,0	0,70
Hymenoptera (Ichneumonidae)	<i>Enicospilus mexicanus</i>	Larva	32,0	22,38
	<i>Enicospilus</i> sp.	Larva	10,0	6,99
-	Não identificadas	-	5,0	3,50

Parasitismo por Diptera (Tachinidae)

A percentagem de parasitismo variou entre as espécies identificadas, sendo que a maior percentagem de parasitismo em larvas de *L. obliqua* foi de 10,71% para a espécie de parasitóide *Patelloa* sp., enquanto que para pupas o maior percentual de parasitismo ocorreu com a espécie *Belvosia* sp. com 13,56% de parasitóides emergidos (Tabela 2). Por outro lado, o parasitóide mais abundante foi *Moreiria wiedemanni*, com 53,13% do número total de parasitóides emergidos (Tabela 2, Fig.1). Obteve-se que 4,55% dos indivíduos dessa espécie emergiram de larvas e 12,55% emergiram das pupas de *L. obliqua*.

Tabela 2. Espécies de endoparasitóides (Dip.: Tachinidae), que emergiram de larvas e pupas de *Lononia obliqua*, coletadas no período de 2001 a 2004 no Norte do estado do Rio Grande do Sul (Identificação: Dr. Ronaldo Toma, Museu de Zoologia, USP)

Espécies parasitóides	Nº de colônias de <i>L. obliqua</i> parasitadas	Nº total de larvas de <i>L. obliqua</i>	Nº total de pupas de <i>L. obliqua</i>	Parasitóides					
				Larvas		Pupas		nº total	Percentagem relativa
				nº	%	nº	%		
<i>Moreiria wiedemanni</i>	12	440	247	20	4,55	31	12,55	51	53,13
<i>Belvosia</i> sp.	7	258	118	0	0	16	13,56	16	16,67
<i>Lespesia affinis</i>	8	332	175	11	3,31	5	2,86	16	16,67
<i>Patelloa</i> sp.	1	56	43	6	10,71	2	4,65	8	8,33
<i>Leschenaultia</i> sp.	3	130	76	1	0,77	2	2,63	3	3,13
<i>Chetogena</i> sp.	1	35	1	1	2,86	0	0,00	1	1,04
<i>Winthemia</i> sp.	1	31	12	0	0	1	8,33	1	1,04
Total	33	1282	672	39	-	57	-	96	100,00

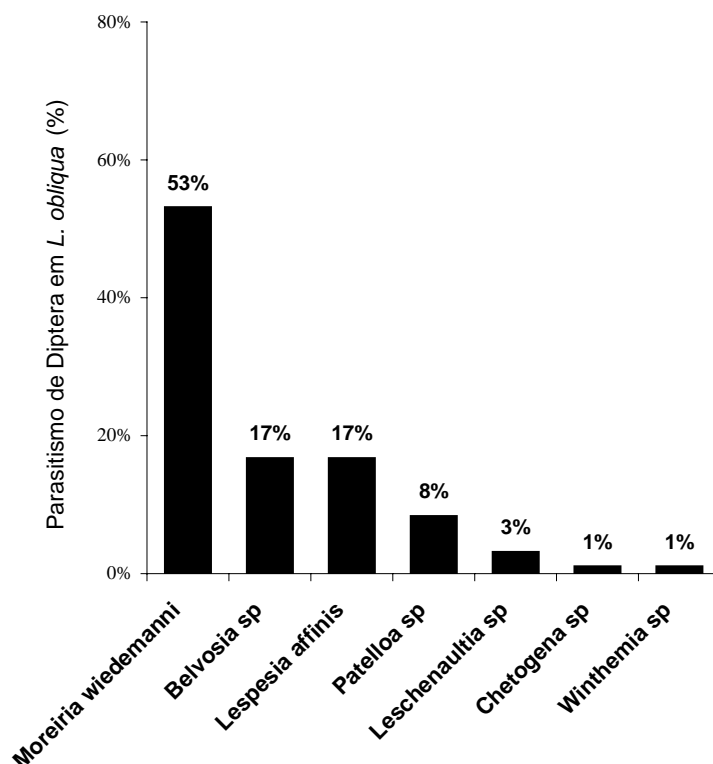


Figura 1. Espécies de endoparasitóides, (Dip.:Tachinidae), que emergiram de larvas e pupas de *Lonomia. obliqua*, em laboratório, coletadas no período de 2001 a 2004, no Norte do estado do Rio Grande do Sul.

Considerando apenas o parasitóide mais abundante *M. wiedemanni*, verificou-se que a percentagem de parasitismo é variável nas diferentes localidades de ocorrência do inseto, com percentagem de parasitismo de larvas variando de 1,47% em uma colônia em Gaurama a 28,57 % em Coxilha (Tabela 3). Já para pupas, o parasitismo variou de 0 em algumas localidades a 100% em uma colônia em S. Francisco de Paula. Em Água Santa observou-se a maior ocorrência de *M. wiedemanni* com 29,41% dos exemplares emergidos.

Tabela 3. Incidência de *Moreiria wiedemanni* (Dip.: Tachinidae) que emergiram de larvas e pupas de *Lonomia obliqua*, coletadas no período de 2001 a 2004, no Norte do estado do Rio Grande do Sul

Procedência das colônias de <i>L. obliqua</i> parasitadas	Nº total de larvas de <i>L. obliqua</i>	Nº total de pupas de <i>L. obliqua</i>	Parasitóides					
			Larvas		Pupas		nº Total	Porcentagem Relativa
			nº	%	nº	%		
Água Santa	48	36	2	4,17	13	36,11	15	29,41
Água Santa	39	25	2	5,13	0	0	2	3,92
Ciríaco	28	25	2	7,14	0	0	2	3,92
Coxilha	7	6	2	28,57	2	33,33	4	7,84
Cruzaltense	33	28	1	3,03	0	0	1	1,96
Erechim	27	20	4	14,81	1	5,00	5	9,80
Farroupilha	42	15	1	2,38	0	0	1	1,96
Gaurama	68	34	1	1,47	1	2,94	2	3,92
Gaurama	38	23	0	0	1	4,35	1	1,96
Ibiraiaras	62	25	2	3,23	10	40,00	12	23,53
Nicolau Vergueiro	43	10	2	4,65	1	10,00	3	5,88
S.Francisco de Paula	5	2	1	20,00	2	100	3	5,88
Total	440	249	20	-	31	-	51	100,00

Quanto à intensidade de parasitismo, verificou-se que o número médio de *M. wiedemanni* por pupa de *L. obliqua* foi 3,74, com variação de 1 a 9 parasitóides por pupa de *L. obliqua* (Fig. 2). Obteve-se portanto, um expressivo parasitismo por *M. wiedemanni* nas larvas da espécie que foram coletadas no campo e continuaram o desenvolvimento em laboratório. Foi observado que essa espécie de endoparasitóide pode parasitar e se desenvolver de diferentes formas dentro de seu hospedeiro. Essa adaptação provavelmente facilita o seu desenvolvimento, pois mesmo parasitada, a larva-hospedeira continua se alimentando e crescendo, chegando até a fase de pupa, de onde saem as larvas dos parasitóide que empupam fora do hospedeiro (Fig.3).

Toma & Guimarães (2001), descreveram *M. wiedemanni* como uma espécie nova no gênero *Moreiria*, citando a mesma como sendo parasitóide do gênero *Lonomia*. Os autores analisaram um exemplar macho e duas fêmeas obtidos de larvas coletadas no campo. Nesse estudo observou-se que *M. wiedemanni* é um importante endoparasitóide, pois pode emergir tanto das larvas como das pupas de *L. obliqua*, estando presente em várias localidades da região de estudo.

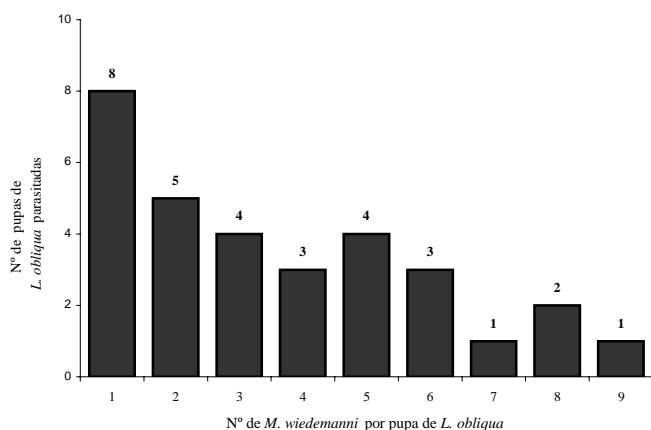


Figura 2. Frequência de parasitismo por *Moreiria wiedemanni* (Dip.: Tachinidae) em pupas de *Lonomia obliqua* coletadas no período de 2001 a 2004, no Norte do estado do Rio Grande do Sul.



Larvas de *M. wiedemanni* saindo de pupas de *L. obliqua*



Pupas de *M. wiedemanni*

Adulto de *M. wiedemanni* sp. nov. Toma & Guimarães, 2001

Figura 3. Larvas, pupas e adultos do parasitóide *Moreiria wiedemanni* (Diptera: Tachinidae), que emergiram de *Lonomia obliqua* coletadas no período de 2001 a 2004, no Norte do estado do Rio Grande do Sul.

O endoparasitóide *Belvosia* sp. emergiu apenas na fase de pupa do hospedeiro, com variação de 5 a 42,86% de pupas parasitadas (Tabela 4). A maior percentagem relativa de endoparasitóides ocorreu no município de Água Santa, com 31,25% dos indivíduos da espécie (Tabela 4). Em *Belvosia* sp. (Fig. 4), todos os endoparasitóides foram solitários e desenvolveram-se totalmente dentro de *L. obliqua*. Também foi verificado que todos os parasitóides emergiram como adultos de dentro das pupas do hospedeiro. De cada pupa de *L. obliqua* emergiu somente um endoparasitóide, talvez por apresentar um tamanho maior do que outros taquinídeos.

A espécie *Belvosia wiedemanni* foi registrada por Lorini (1999) como endoparasitóide de *L. obliqua*. Resultados semelhantes foram encontrados em pupas de *Anisota senatoria* (Saturniidae), de onde emergiram endoparasitóides solitários, de tamanho avantajado e pertencentes ao mesmo gênero *Belvosia* (Coffelt & Schultz, 1993). A estratégia em procurar o hospedeiro específico das larvas para nessa planta deixar seus ovos, também garante o melhor desempenho desse endoparasitóide (Peigler, 1994). Em pupas de *A. senatoria* coletadas no campo, Coffelt & Schultz (1993) registraram o parasitismo de 0,7% de *Belvosia bifasciata*.

Tabela 4. Incidência de *Belvosia* sp. (Dip.: Tachinidae), que emergiu de pupas de *Lonomia obliqua* coletadas no período de 2001 a 2004, no Norte do estado do Rio Grande do Sul

Procedência das colônias de <i>L. obliqua</i> parasitadas	Nº total de larvas de <i>L. obliqua</i>	Nº total de pupas de <i>L. obliqua</i>	Parasitóides		
			Pupas		Percentagem Relativa
			nº	%	
Água Santa	39	25	5	20,00	31,25
Erechim	38	10	1	10,00	6,25
Erechim	18	8	1	12,50	6,25
Erechim	27	20	1	5,00	6,25
Ibiraiaras	28	7	3	42,86	18,75
Rondinha	46	41	3	7,32	18,75
Vila Maria	62	7	2	28,57	12,50
Total	258	118	16	-	100,00

*Belvosia* sp*Lespesia affinis* Townsend, 1927*Patelloa* sp.*Leschenaultia* sp.

Figura 4. Adultos de Diptera (Tachinidae) emergidos de *L. obliqua*, em laboratório.

O percentual de incidência do endoparasitóide *Lespesia affinis* (Fig. 4), variou de 0 a 14,29% em larvas de *L. obliqua*, e de 0 a 33,33% em pupas do hospedeiro (Tabela 5). A maior incidência deste taquinídeo ocorreu no município de Sananduva, com 31,25% do total de parasitóides encontrados neste trabalho. Ocorreu apenas um endoparasitóide de *L. affinis* para cada hospedeiro, caracterizando-se como endoparasitóides solitário, e as pupas do parasitóide foram formadas fora do corpo do hospedeiro. Semelhantes resultados foram encontrados por Coffelt & Schultz (1993), que observaram que 98,8% das pupas de *Lespesia anisotae* empuparam fora do corpo do hospedeiro, e obtiveram um parasitismo médio de 10,7% em material coletado a campo. Peigler (1994) verificou que esse endoparasitóide coloca os ovos no corpo do hospedeiro e a maioria das larvas saem das pupas do hospedeiro para empupar fora deste. Esta espécie também foi encontrada como parasitóide de *L. obliqua* por Moraes, (2002) em larvas coletadas em Santa

Catarina. *L. affinis* também parasitou larvas de 6º instar de *Spodoptera frugiperda* em larvas provenientes do campo (Silva *et al.*, 1997).

A espécie *Lespesia aletiae* foi registrada como endoparasitóides de *Actias luna* (Saturniidae), emergindo das larvas de 5º instar e também de pupas do hospedeiro (Kellogg *et al.*, 2003). *Lespesia* sp. é referida como endoparasitóide de outros lepidópteros, como *Dione vanillae* (Heliconiidae) no Rio Grande do Sul, *Alabama argillacea* (Noctuidae), em Minas Gerais, *Mocis latipes* (Noctuidae) e *Actinote peleneae* (Nymphalidae) no Rio de Janeiro (Gonçalves & Gonçalves, 1974).

Tabela 5. Incidência de *Lespesia affinis* (Dip.: Tachinidae), que emergiu de larvas e pupas de *Lonomia obliqua* coletadas no período de 2001 a 2004, no Norte do Estado do Rio Grande do Sul

Procedência das colônias de <i>L. obliqua</i> parasitadas	Nº total de larvas de <i>L. obliqua</i>	Nº total de pupas de <i>L. obliqua</i>	Parasitóides					
			Larvas		Pupas		nº Total	Percentagem Relativa
			nº	%	nº	%		
Carazinho	56	46	1	1,79	1	2,17	2	12,50
Colorado	74	28	2	2,70	1	3,57	3	18,75
Não-Me-Toque	61	53	2	3,28	0	0	2	12,50
Não-Me-Toque	40	16	1	2,50	0	0	1	6,25
Sananduva	28	3	4	14,29	1	33,33	5	31,25
Vila Maria	25	12	0	0	1	8,33	1	6,25
XV de Novembro	28	7	1	3,57	0	0	1	6,25
XV de Novembro	20	10	0	0	1	10,00	1	6,25
Total	332	175	11	-	5	-	16	100,00

O endoparasitóide *Patelloa* sp. (Fig. 4), ocorreu apenas em uma colônia de 56 larvas de *L. obliqua*. Esse endoparasitóide emergiu de larvas e de pupas do hospedeiro, com um parasitismo total de 14%. Foram obtidos adultos de todas as pupas de *Patelloa* sp. (n=8). As espécies do gênero *Patelloa* sp. já foram registradas em outros hospedeiros, como: *Patelloa* sp. em *Pythonides hyacinthinus* (Hesperiidae) (Herrera & Rodriguez 1998), *Patelloa rusti* em *Agrotis* sp. (Noctuidae),

Anticarsia gemmatalis e *Mocis latipes* (Noctuidae) (Gonçalves & Gonçalves 1974), *Patelloa similis*, em *Periga (Lonomia) circumstans* (D'Antonio 1983) e em larvas de *Mythimna (Pseudaletia) sequax* (Foerster *et al.*, 2002).

O endoparasitóide *Leschenaultia* sp. (Fig. 4), emergiu das larvas e pupas de *L. obliqua*, com parasitismo relativamente baixo, de 1,47% para larvas e máximo de 5% para pupas (Tabela 6). Apenas três exemplares deste endoparasitóides emergiram do hospedeiro, confirmando o relatado de Lorini (1999) em larvas de *L. obliqua* coletadas no campo em Passo Fundo, RS. Observou-se que nesta colônia de larvas de *L. obliqua* emergiram diferentes espécies de endoparasitóides das pupas sendo um deles *Leschenaultia* sp. e o outro *M. wiedemanni*. Resultado semelhante foi relatado em *Hemileuca oliviae* (Saturniidae), onde foi encontrado a mesma larva do hospedeiro parasitada por *Leschenaultia* sp. e por *Chetogena* sp. (Fritz *et al.* 1986). Os mesmos autores observaram o comportamento de oviposição de *Leschenaultia*, cujas fêmeas ovipositaram no final dos espinhos, em volta da cabeça do hospedeiro.

Tabela 6. Incidência de *Leschenaultia* sp. (Dip.: Tachinidae), que emergiu de larvas e pupas de *Lonomia obliqua*, em laboratório, coletadas no período de 2001 a 2004, no Norte do Estado do Rio Grande do Sul.

Procedência das colônias de <i>L. obliqua</i> parasitadas	Nº total de larvas de <i>L. obliqua</i>	Nº total de pupas de <i>L. obliqua</i>	Parasitóides				nº Total
			Larvas		Pupas		
			%	nº	%	n	
Erechim	27	20	0	0	1	5	1
Gaurama	68	34	1	1,47	0	0	1
Ibiruba	35	22	0	0	1	4,55	1
Total	130	76	1	-	2	-	3

Os parasitóides *Chetogena* sp. e *Winthemia* sp. foram os que tiveram a menor incidência. Apenas um exemplar de cada espécie emergiu do hospedeiro, com uma taxa de parasitismo de 1,04% do total de parasitóides de Tachinidade (Diptera) que emergiram de *L. obliqua*.

Parasitismo por Hymenoptera (Ichneumonidae)

Os endoparasitóides pertencentes à família Ichneumonidae emergiram de 27 colônias de larvas de *L. obliqua* coletadas no campo onde o parasitismo iniciou (Tabela 7). A percentagem de parasitismo variou de 1,37% de larvas parasitadas em uma colônia coletada em Ciríaco a 55,56% em larvas da localidade de Passo Fundo, com média de 12,16% de parasitismo entre as colônias estudadas. A maior percentagem relativa de endoparasitóides emergidos das larvas de *L. obliqua* ocorreu nas localidades de Casca e Vila Maria, com 9,62% do total de endoparasitóides que emergiram no laboratório. Das larvas dos endoparasitóides que emergiram do hospedeiro, 45,2% originaram adultos do endoparasitóide (Fig. 6).

O potencial de parasitismo por Ichneumonidae correspondeu a 1:1, isto é um endoparasitóide por larva de *L. obliqua*, caracterizando esses, como endoparasitóides solitários de larvas da espécie (Fig. 5). Esse resultado é semelhante ao de Vinson & Iwantsch (1980), que relatam que no caso de espécies solitárias, apenas um endoparasitóide emerge de um super ou múltiplo hospedeiro parasitado.

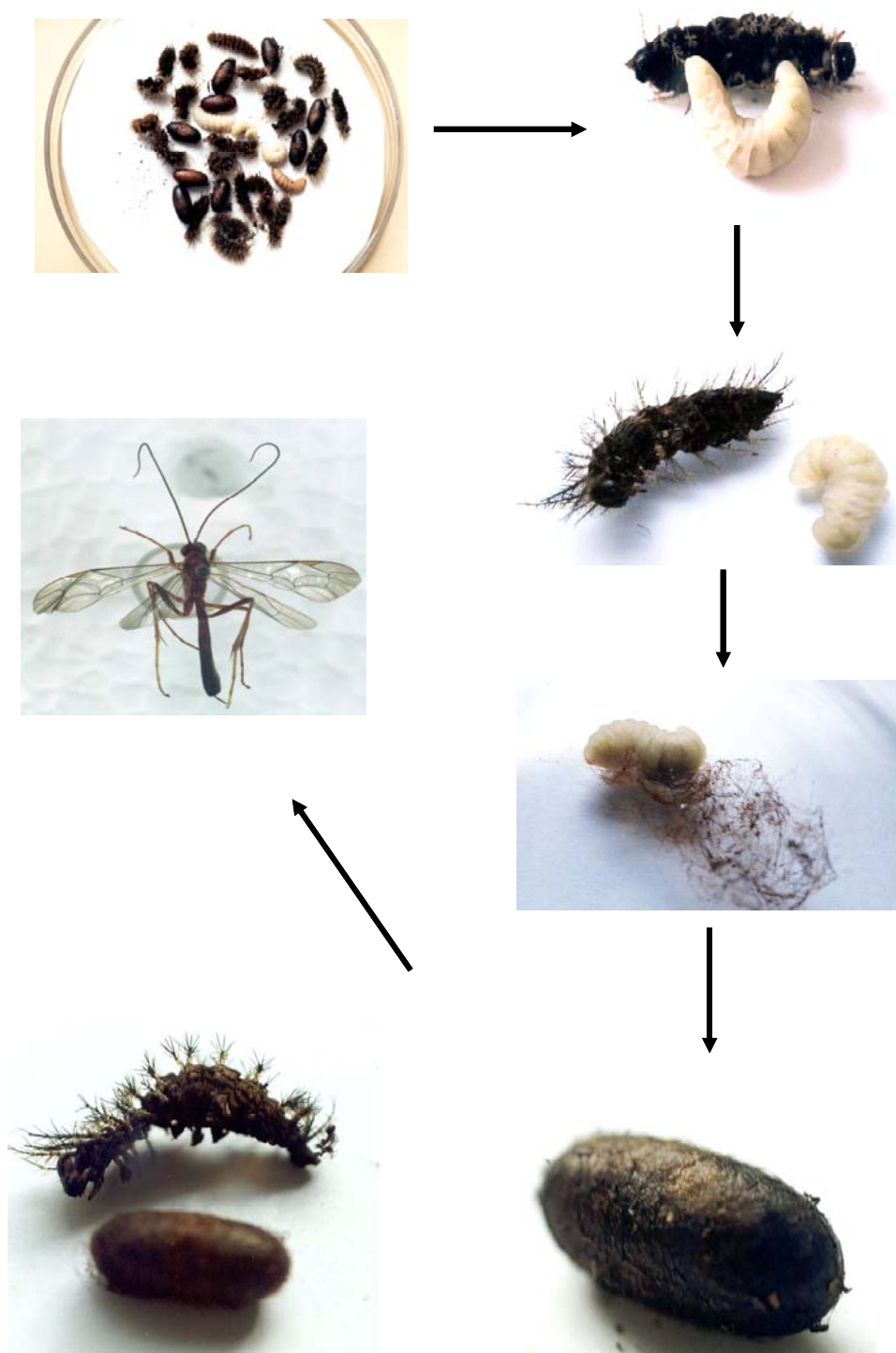


Figura 5. Ciclo de vida de um endoparasitóide solitário pertencente à família Ichneumonidae (Hymenoptera) em larvas de *Lonomia obliqua*.

Tabela 7. Espécies de endoparasitóides (Hym.: Ichneumonidae) que emergiram de larvas de *Lonomia obliqua* coletadas no período de 2001 a 2004, no Norte do Estado do Rio Grande do Sul

Número da colônia	Procedência das colônias de <i>L. obliqua</i>	Nº de larvas de <i>L. obliqua</i>	Nº de larvas parasitadas	Percentagem de parasitismo	Percentagem relativa
1	Água Santa	39	1	2,56	0,96
2	Campos Borges	10	1	10,00	0,96
3	Casca	83	10	12,05	9,62
4	Ciríaco	73	1	1,37	0,96
5	Ciríaco	40	1	2,50	0,96
6	David Canabarro	50	1	2,00	0,96
7	David Canabarro	20	2	10,00	1,92
8	Erechim	38	6	15,79	5,77
9	Erechim	36	1	2,78	0,96
10	Farroupilha	42	8	19,05	7,69
11	Farroupilha	40	9	22,50	8,65
12	Gaurama	68	3	4,41	2,88
13	Marau	56	4	7,14	3,85
14	Nicolau Vergueiro	27	1	3,70	0,96
15	Nicolau Vergueiro	19	2	10,53	1,92
16	Passo Fundo	9	5	55,56	4,81
17	Sananduva	21	1	4,76	0,96
18	São Domingos do Sul	41	3	7,32	2,88
19	São Jorge	26	6	23,08	5,77
20	Sto Antônio do Palma	39	5	12,82	4,81
21	Vila Maria	70	2	2,86	1,92
22	Vila Maria	29	10	34,48	9,62
23	Vila Maria	26	7	26,92	6,73
24	Vila Maria	46	5	10,87	4,81
25	Vila Maria	42	7	16,67	6,73
26	Vila Maria	52	1	1,92	0,96
27	Vila Maria	21	1	4,76	0,96
Média		39,37	3,85	12,16	-
Total		1063	104		100,00

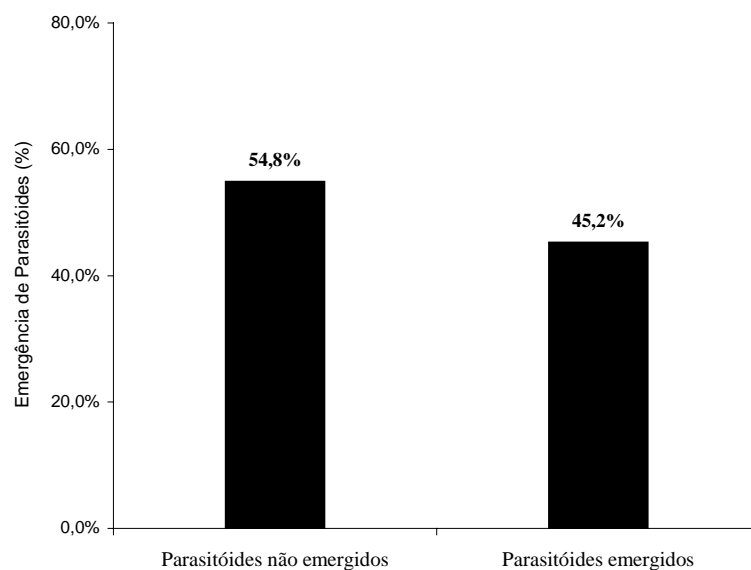


Figura 6. Percentual de emergência dos adultos dos endoparasitóides solitários pertencentes à (Hym.: Ichneumonidae).

Todos os endoparasitóides de Hymenoptera obtidos são da família Ichneumonidae, subfamília Ophioninae. Esses endoparasitóides foram identificados como pertencentes ao gênero *Enicospilus* (Fig. 7), sendo 68% pertencente a espécie *Enicospilus mexicanus* (Cresson 1874), 21,30% a *Enicospilus* sp. e 10,7% não foram identificados por estarem danificados (Fig. 8). *Enicospilus* sp. também foi encontrado por Moraes (2002), em larvas de *L. obliqua*, coletadas no campo, no extremo Oeste de Santa Catarina e no Sudeste de São Paulo.



Enicospilus mexicanus (Cresson 1874)



Enicospilus sp.

Figura 7. Espécies dos endoparasitóides solitários (Hym.: Ichneumonidae) em larvas de *Lonomia obliqua*.

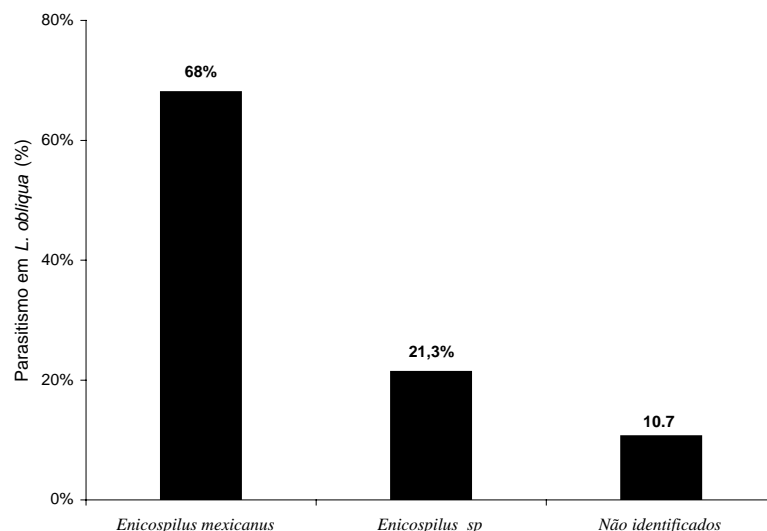


Figura 8. Percentual de parasitismo em larvas de *Lonomia obliqua* por endoparasitóides solitários (Hym.: Ichneumonidae).

Todas as larvas de *L. obliqua* coletadas no campo estavam entre o 3º e o 5º instar, sendo que muitas delas já estavam parasitadas por endoparasitóides solitários de Hymenoptera. Foi observada a emergência da larva do parasitóide de dentro da larva de *L. obliqua* no final do último instar, quando a larva do hospedeiro diminuiu os movimentos e parou de se alimentar. Em poucos dias, a larva do parasitóide rompeu o tegumento da larva hospedeira na região ventral, saindo desta, e no dia seguinte transformando-se em pupa. O adulto do parasitóide também emergiu fora do hospedeiro (Fig. 5). A duração média do período pupal desse parasitóide foi de 24,24 ($\pm 2,54$) dias. Peigler (1994) relata resultados semelhantes citando que é comum as fêmeas de Ichneumonidae injetarem veneno para imobilizar temporariamente o hospedeiro, enquanto fazem a oviposição sobre o corpo das larvas com seu longo ovipositor, passando a se desenvolver até a fase de larva dentro da larva do hospedeiro. O mesmo autor cita *Samia cynthia*, *Samia pryeri*, *Antheraea roylei*, *Actias isabellae* e *Archaeottacus edwardsii*, todos da família Saturniidae como hospedeiros de várias subfamílias de Ichneumonidae. Larvas de 2º instar de *Actias luna* (Saturniidae), foram

parasitadas por *Phobocampe clisiocampae* (Ichneumonidae), e as larvas do parasitóide emergiram no 3º instar das larvas do hospedeiro (Kellogg *et al.*, 2003). Larvas de *Callosamia promethea* (Saturniidae) foram coletadas no campo e estavam parasitadas por *Enicospilus americanus* (Boettner *et al.*, 2000). Outras espécies de Ichneumonidae são registrados parasitando larvas de lepidópteros, como: *Campoletis flavicincta* em larvas de 2º instar de *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae) (Cruz *et al.*, 1997), *Hyposoter fugitivus* nos primeiros três instares de *Anisota senatoria* (Coffelt & Schultz, 1993), e *Itopectis brasiliensis* em larvas de *Bonagota cranaodes* (Tortricidae), (Botton *et al.*, 2002).

Os endoparasitóides de Diptera geralmente parasitam larvas de últimos instares do hospedeiro, devido a sua maior exigência alimentar (Notz, 1972, citado por Silva *et al.*, 1997). Quando o parasitismo ocorre nos primeiros instares larvais, os dípteros não atingem a fase adulta pois não encontram alimento suficiente no hospedeiro. O mesmo não ocorre com os Hymenoptera, os quais possuem exigências nutricionais diferentes

Os resultados obtidos nesse estudo permitem inferir que esses endoparasitóides possuem potencial de redução da população de *L. obliqua*, e isso se deve a capacidade de provocar a morte na fase de larva e de pupa do hospedeiro.

A diversidade de espécies de endoparasitóides de *L. obliqua* encontradas neste trabalho, o índice significativo de parasitismo de algumas espécies, e a intensidade destes parasitóides, evidenciam a importância destes agentes biológicos no equilíbrio populacional de *L. obliqua* no habitat natural. A continuidade dos estudos nesta linha de pesquisa são fundamentais para o estabelecimento de estratégias de controle de *L. obliqua*, visando proteger a população humana dos crescentes acidentes hemorrágicos causados pela espécie.

Literatura Citada

- Botton, M., O. Nakano & A. Kovalesski. 2002.** Parasitóides associados à lagarta-enroladeira *Bonagota cranaodes* (Meyrick, 1937) (Lepidoptera: Tortricidae) na cultura da Macieira. Ciênc.Rural 32: 341-343.
- Boettner, G.H., J.S.Elkinton, & C. J. Boettner. 2000.** Effects of a Biological Control Introduction on three nontarget native species of Saturniid moths. Conserv. Biol. 14: 1798-1806.
- Coffelt, M.A. & P. B. Schultz. 1993.** Larval Parasitism of Orangestriped Oakworm (Lepidoptera: Saturniidae) in the Urban Shade Tree Environment. Biol. Control 127-134.
- Cruz, I., M.L. C. Figueiredo, E. P. Gonçalves, D. A. N. Lima & E. E. Diniz. 1997.** Efeito da idade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) no desempenho do parasitóide *Campoletis flavicincta* (Ashmead) (Hymenoptera: Ichneumonidae) e Consumo foliar por lagartas parasitadas e não-parasitadas. An. Soc. Entomol. Brasil 26: 229-224.
- D'Antonio, A. M. 1983.** Biologia, Nutrição Quantitativa e Danos de *Periga (Lonomia) circumstans* Walker, 1855 (Lepidoptera, Attacidae) em Cafeeiro. Dissertação de mestrado, ESALQ/USP Piracicaba, 69p.
- Duarte, A.C.; Caovilla, A.J. Lorini, I., Lorini, D., Mantovani, G., Sumida, J., Manfre, P.C. Silveira & R.C. Moura. 1990.** Insuficiência renal aguda por acidentes com lagartas. J. Bras. Nefrol. 12:184-187.

- Foerster, L.A. & A.K. Doetzer. 2002.** Host Instar Preference of *Peleteria robusta* (Wiedman) (Diptera :Tachinidae) and development in Relation to temperature. *Neotrop.Entomol.* 31: 405-409.
- Fritz, G.N., A.P. Frater & J.C. Owens. 1986.** Parasitoids os *Hemileuca oliviae* (Lepidoptera: Saturniidae) in Chihuahua, México. *An. Entomol. Soc. America* 79:686-690.
- Gonçalves, C. R. & A. J. L. Gonçalves. 1974.** Novas observações sobre moscas da família Tachinidae que parasitam lepidópteros. *Rev. Bras. Biol.* 34:531-534.
- Herrera, A . G. & G. S. Rodriguez. 1998.** Bombyllidae y Tachinidae (Diptera) pasitoides de Lepidoptera en Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 46: 1147-1148.
- Lopes, C. D. M. D'A . T. M. D.C. Della Lucia & M. C. Picanço. 1997.** Consumo foliar de lagartas de *Spodoptera eridania* (Cramer, 1782) parasitadas por *Cyrtophloebe* esp.n. (Diptera: Tachinidae). *Rev. Bras. Biol.* 57: 15-19.
- Lorini, L. M. 1999.** A Taturana. Aspectos biológicos e morfológicos da *Lonomia obliqua*. Passo Fundo, EDIUPF, 67p.
- Kellogg, S. K., L. S. Fink & L.P.Brower. 2003.** Parasitism of Native Moths, *Actias luna* (L.) (Lepidoptera: Saturniidae) by the introduced *Compsilura concinnata* (Meigen) (Diptera: Tachinidae) in Central Virginia, and their Hyperparasitism by Trigonalid Wasps (Hymenoptera: Trigonalidae). *Environ. Entomol.* 32: 1019-1027.

- Moraes, R. H. P. 2002.** Identificação dos inimigos naturais de *Lonomia obliqua* Walker, 1855 (Lepidoptera: Saturniidae) e possíveis fatores determinantes do aumento da sua população. Dissertação de Mestrado, ESALC/USP, Piracicaba, 58p.
- Pair, S. D., M. L. Laster & D. F. Martin. 1982.** Parasitoids of *Heliothis* spp. (Lepidoptera:Noctuidae) Larvae in Mississippi Associated with Sesame Interplantings in Cotton, 1971-1974: Implications of Host-Habitat Interaction. Environ. Entomol. 11: 509-512.
- Peigler, R. S. 1994.** Catalog of Parasitoids of Saturniidae of the World. J. Res. Lepid. 33:1-121.
- Sabrosky, C.W. 1980.** A revised Key to the Nearctic Species of *Lespesia* (Diptera:Tachinidae). An. Entomol. Soc. America 73: 63-73.
- Silva, A G. d'A. C. R. Gonçalves, D. M. Galvão, A. J. L. Gonçalves, J. Gomes, M. N. Silva & L. Simoni. 1967.** Parte I tomo 2. Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil: seus parasitos e predadores. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura 906p.
- Silva, F. M., A. A. G. Fowler & R.n.s. Lemos. (1997).** Parasitismo em Lagarta-do- Cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith), na Região do Triângulo Mineiro, MG. An. Soc. Entomol. Brasil 26: 235-241.
- Sourakov, A. & E. R. Mitchell 2002.** Laboratory biology of *Chetogena scutellaris* (Diptera:Tachinidae), a parasitoid of Noctuidae, reared on fall armyworm and cabbage looper. Florida Entomol. 85: 341-343.

Toma, R. & Guimarães, J. H. 2001. *Moreiria Wiedemanni* sp. Nov. e redescrição de *M. maura* (Diptera: Tachinidae). Iheringia, Sér.Zool. 91: 49-52.

Vinson, S. B.;G. F. Iwantsch, 1980. Host Suitability for Insect Parasitoids. Ann. Rev. Entomol. 25: 397-419.

CONCLUSÕES GERAIS E PERSPECTIVAS DE TRABALHO

Através da técnica de criação desenvolvida em laboratório foi possível obter adultos de *L. obliqua* para a realização dos estudos de comportamento, acasalamento, evidências de feromônio sexual e ainda a incidência de parasitismo natural na espécie.

As observações obtidas sobre o comportamento de acasalamento dos adultos de *L. obliqua* forneceram informações de fundamental relevância para o processo de isolamento e identificação estrutural do feromônio sexual.

Evidências comportamentais e eletrofisiológicas foram obtidas a respeito da mediação por feromônio sexual na comunicação química da espécie. Apesar de não ter sido finalizado o processo de identificação dos feromônios, já se tem indícios sobre a estrutura química dos componentes presentes na glândula das fêmeas, que seguem o padrão estrutural da maioria dos lepidópteros, restando apenas algumas derivatizações para se estabelecer a correta posição das duplas ligações na cadeia carbônica.

Foi possível identificar uma série de inimigos naturais de *L. obliqua* os quais se concentram nas ordens Diptera e Hymenoptera. Pretende-se também aprofundar os estudos sobre a ocorrência de parasitismo em larvas de *L. obliqua*, correlacionando-os com dados climáticos (temperatura, pluviosidade, entre outros), das regiões de maior incidência de parasitismo no hospedeiro.

Provavelmente exista mediação por cairomônio na localização da larva de *L. obliqua* por seu hospedeiro de Hymenoptera, visto que estudos preliminares já realizados no grupo de pesquisa já foi evidenciado esse tipo de interação.